

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



529 319

(43) Date de la publication internationale
21 mai 2004 (21.05.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/041841 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ : C07K
(21) Numéro de la demande internationale : PCT/FR2003/003293

(22) Date de dépôt international :
4 novembre 2003 (04.11.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
02/13792 5 novembre 2002 (05.11.2002) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) :
UNIVERSITE DE LA MEDITERRANEE (AIX-MAR-
SEILLE II) [FR/FR]; Jardin du Pharo, 58, boulevard
Charles Livon, F-13284 Marseille Cedex 07 (FR).
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCI-
ENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange,
F-75794 Paris Cédex 16 (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : RAOULT,
Didier [FR/FR]; 16, rue de Lorraine, F-13008 Marseille
(FR). DRANCOURT, Michel [FR/FR]; 9, Traverse de la
Pauline, F-13012 Marseille (FR).

(74) Mandataire : DOMANGE, Maxime; Cabinet Beau de
Loménie, 232, avenue du Prado, F-13295 Marseille Cedex
08 (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclaration en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US
seulement

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: MOLECULAR IDENTIFICATION OF BACTERIA OF GENUS *STREPTOCOCCUS* AND RELATED GENUSES

(54) Titre : IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES BACTERIES DU GENRE *STREPTOCOCCUS* ET GENRES
APPARENTES

(57) Abstract: The invention concerns a method for detecting by molecular identification a bacterium of one of the species of
genuses *Streptococcus* and four related genuses *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella* which consists in using as
probe or primer: the *rpoB* gene or fragment of one said bacterium of sequences SEQ ID N°1 to 3, or an oligonucleotide or a mixture
of oligonucleotides derived from sequences SEQ ID N° 8 to 35, or in particular oligonucleotides of sequences SEQ ID n° 6 and 7.

(57) Abrégé : La présente invention a pour objet un procédé de détection par identification moléculaire d'une bactérie de l'une des
espèces des genres *Streptococcus* et 4 genres apparentés *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella* pour lequel on utilise
comme sonde ou amorce: -le gène ou fragment de gène *rpoB* d'une dite bactérie des séquences SEQ ID N°1 à 3, ou - un oligonu-
cléotide ou mélange d'oligonucléotides tiré des séquences SEQ ID N° 8 à 35, ou notamment les oligonucléotides des séquences SEQ
ID n° 6 et 7.

WO 2004/041841 A2

IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES BACTERIES DU GENRE *STREPTOCOCCUS* ET GENRES APPARENTES

La présente invention concerne le domaine du diagnostic. Plus
5 précisément, l'invention concerne une méthode pour l'identification moléculaire
des bactéries du genre *Streptococcus* et genres apparentés *Enterococcus*,
Gemella, *Abiotrophia* et *Granulicatella* par les techniques de détection et/ou
d'amplification et séquençage à l'aide de sondes ou d'amorces
oligonucléotidiques appliquées à des souches de ces genres bactériens.

10 Les bactéries du genre *Streptococcus* et de quatre genres apparentés :
Enterococcus, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella*, sont des bactéries
cocciformes, gram positif et catalase négative dont on reconnaît actuellement
plus d'une quarantaine d'espèces. Les bactéries du genre *Lactococcus*,
précédemment classées parmi les streptocoques comme *Streptococcus* groupe
15 N, n'entrent pas dans le champ de ce brevet du fait de leur rareté en pathologie
humaine, et du fait qu'elles sont facilement discriminées des streptocoques par
leur croissance à + 10°C. Le genre *Streptococcus* comporte officiellement 55
espèces. Le genre *Gemella* comporte 6 espèces, le genre *Abiotrophia* comporte
1 espèce, le genre *Granulicatella* comporte 3 espèces, le genre *Enterococcus*
20 comporte 24 espèces [www.springer-ny.com/bergeysoutline/main.htm]. Ces
espèces sont facilement et fréquemment cultivées à partir de prélèvements
environnementaux, de prélèvements cliniques vétérinaires et de prélèvements
cliniques humains [Ruoff KI. (1999) in Manuel of Clinical Microbiology, pp. 283-
296, ASM press]. Chez l'homme, différentes espèces du genre *Streptococcus*
25 sont responsables d'infections communautaires éventuellement sévères du fait
du caractère invasif des streptocoques considérés ou du fait de la production de
toxines et de manifestations cliniques éventuellement graves à distance du foyer
infectieux. Par exemple, *Streptococcus pyogenes* (Streptocoque groupe A) est
responsable d'angines et de syndromes post-streptococciques incluant le
30 rhumatisme articulaire aigu au cours duquel la destruction des valves cardiaques
par un processus inflammatoire est responsable d'une valvulopathie
éventuellement mortelle. Egalement, plusieurs espèces du genre *Streptococcus*
en particulier les Streptocoques du groupe A, du groupe C, et du groupe G sont

responsables d'infections invasives mortelles en particulier de myosite c'est-à-dire de destruction des tissus cutanés et sous cutanés et du tissu musculaire comme cela a été décrit depuis quelques années. Egalement par exemple *Streptococcus pneumoniae* (pneumocoque) est responsable de pneumonie, de

5 méningite et de septicémie. Par ailleurs, les bactéries des genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia*, et *Granulicatella* sont responsables d'endocardites c'est-à-dire d'infection des valves cardiaques chez l'homme, lesquelles constituent des maladies infectieuses mortelles [Casalta JP et al. Journal Clinical Microbiology, 2002, 40 : 1845-1847]. Egalement, certaines

10 espèces des genres considérés sont responsables d'infections nosocomiales, par exemple, les bactéries du genre *Streptococcus* du groupe A sont responsables de bactériémies qui succèdent à des explorations par endoscopie digestive. Egalement, les bactéries du genre *Enterococcus* sont responsables d'infections urinaires nosocomiales après utilisation d'antibio-prophylaxie par des

15 antibiotiques de la famille des céphalosporines auxquelles elles sont naturellement résistantes. Ces espèces bactériennes posent par ailleurs le problème de leur résistance croissante aux antibiotiques, résistance à la pénicilline G de *Streptococcus pneumoniae* [Garav J. Lancet Infect. Dis. 2002, 2 : 404-415] et résistance à la vancomycine d'*Enterococcus* spp. [Gold H.S. Clin. Infect. Dis. 2001, 33 : 210-219 ; Bonten M.J. et al. Lancet Infect. Dis. 2001, 1 : 314-325].

20

Ces différentes espèces bactériennes posent le problème de leur détection dans les prélèvements pathologiques chez l'homme et de leur identification lorsqu'elles ont été isolées à partir desdits prélèvements. Les

25 méthodes conventionnelles de détection reposent en effet sur la mise en évidence de bactéries cocciformes gram positif, à l'examen direct du produit pathologique. Il est cependant connu que cette détection microscopique des bactéries du genre *Streptococcus* et de genres apparentés dans les prélèvements cliniques a un seuil de sensibilité de 10^4 CFU/ml. Il est donc tout à

30 fait possible qu'un prélèvement pathologique chez l'homme ou chez l'animal contienne une des espèces considérées qui ne soit pas détectée à l'examen microscopique direct de ce prélèvement pathologique. Par ailleurs, bien que leur structure soit celle de bactéries Gram – positif, elles peuvent apparaître

faussement Gram-négatif après coloration de Gram du prélèvement pathologique et donner lieu à une identification erronée ou à une impasse d'identification. Ceci est particulièrement fréquent pour les bactéries du genre *Gemella*. Chez l'homme, c'est en particulier le cas lors de l'examen anatomopathologique et bactériologique des valves cardiaques dans le cas d'une endocardite.

Lorsque qu'une bactérie d'une espèce des genres considérés est isolée au laboratoire, les méthodes conventionnelles d'identification phénotypique sont les plus couramment utilisées pour l'identification des bactéries des espèces du genre *Streptococcus* et des genres apparentés et plusieurs trousseaux d'identification ainsi que des automates ont été développés pour aider à l'identification phénotypique des bactéries du genre *Streptococcus* et des genres apparentés. Sur ce plan, le degré d'identification en pratique courante est variable. En particulier, un des tests utilisés pour l'identification des Streptocoques et des bactéries des genres apparentés est l'observation d'une réaction hémolytique, c'est-à-dire la destruction par la bactérie des hématies contenues dans une gélose au sang. Cependant cette réaction d'hémolyse peut être inhibée par la présence d'oxygène ou par la présence de peroxyde lorsque les bactéries Streptocoques sont cultivées en présence de concentration importante de dioxyde de carbone. Il est par ailleurs reconnu qu'il existe un certain degré de subjectivité dans l'appréciation de l'hémolyse par les colonies de Streptocoques et donc une variabilité d'inter opérateur qui nuit ensuite à la qualité de l'identification de ces bactéries. Pour les streptocoques alpha-hémolytiques, un deuxième test est celui de la sensibilité à l'optochine qui permet de reconnaître *Streptococcus pneumoniae* qui est sensible à ce composé. Cependant, des souches de *Streptococcus pneumoniae* résistant à l'optochine ont été rapportées [Lund E. Acta Patho. Microbiol. Immunol. Scand. 1959, 47, 308-315]. Un dernier test phénotypique est le sérotypage, ce test peut être faussement positif en particulier pour les streptocoques de séro groupe D du fait d'antigénicité croisée entre les streptocoques du groupe D, *Enterococcus* et *Pediococcus*.

Plusieurs systèmes moléculaires ont été développés pour l'identification de certains sérogroupes ou de certaines espèces du genre *Streptococcus*, en

particulier les streptocoques du groupes A (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius*) et du groupe B (*Streptococcus agalactiae*) [Daly J.A. et al. J Clin Microbiol. 1991, 29 : 80-82 ; Heelan J.S. et al. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 1996, 24 : 65-69] de même que pour *Streptococcus pneumoniae* [Denys G.A. et Carrey R.B. J. Clin. Microbiol. 1992, 30 : 2725-2727] par hybridation de sondes spécifiques ciblant le gène codant l'ARN ribosomal 16S. Egalement, différents systèmes basés sur l'amplification par PCR de gènes codant pour des toxines ou des facteurs de virulence ont été développés pour la discrimination de *Streptococcus pneumoniae* parmi les Streptocoques α -hémolytiques [Salo P. et al. J. Infect. Dis. 1995, 171 : 479-482 ; Morrisson K. et al. J. Clin. Microbiol. 2000, 38, 434-437 ; Kaijalainen T. et al. J. Microbiol. Meth. 2002, 51 : 111-118], ainsi que pour la détection de *Streptococcus agalactiae* [Mawn J.A. et al. J. Clin. Pathol. 1993, 46 : 633-636]. Ces différents systèmes cependant ne permettent l'identification que d'une ou quelques espèces du genre *Streptococcus*.

Un système d'identification de trois espèces de streptocoque a été développé, basé sur l'amplification de l'entretoise 16S-23S [Forsman P. et al. Microbiology, 1997, 143, 3491-3500], mais l'identification n'a été limitée dans ce travail qu'à certaines espèces d'intérêt animal : *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* et *Streptococcus uberis*. Par ailleurs, il est actuellement indispensable de disposer dans les laboratoires de 2 cibles moléculaires distinctes pour la détection et l'identification des streptocoques, ceci afin de pallier les risques de contamination moléculaire inhérents à l'utilisation d'une seule cible.

Enfin, aucun système de détection et d'identification des genres apparentés à *Streptococcus* n'a été développé et plus particulièrement pour les bactéries du genre *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella*.

Les inventeurs ont démontré selon la présente invention, que le gène *rpoB* constitue un marqueur génétique permettant la détection et l'identification spécifique de la bactérie de chaque espèce du genre *Streptococcus* et de 4 genres apparentés : *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella*.

Bien que ce gène ait été précédemment montré comme un outil d'identification bactérienne dans différents genres bactériens, aucune publication

ne fait mention de son utilisation pour l'identification des bactéries des genres *Streptococcus* et des quatre genres apparentés et il n'y avait donc aucune suggestion quant à l'intérêt de la séquence de ce gène pour l'identification des dites bactéries. Au contraire, quelques séquences partielles du gène *rpoB* chez
5 quelques espèces, disponibles dans GenBank montrait une faible hétérogénéité, faisant douter de l'intérêt de ce gène comme outil d'identification pour ces bactéries. Enfin, les inventeurs ont développé un outil d'identification de quatre genres bactériens simultanément, obligeant la mise au point d'amorces dégénérées qui ne pouvaient être déduites d'aucune des séquences *rpoB*
10 déterminées pour chaque espèce.

Plus particulièrement, la présente invention concerne des séquences d'acides nucléiques spécifiques du genre ou de chaque espèce du genre *Streptococcus* et des genres apparentés dont la séquence nucléotidique est tirée du gène *rpoB* des dites bactéries.

15 Selon Lazcano et al. [J. Mol. Evol. (1988) 27 :365-376], les ARN polymérases sont divisées en deux groupes selon leur origine, l'un constitué par les ARN polymérases virales ARN- ou ADN-dépendantes, et l'autre constitué par les ARN polymérases ADN-dépendantes d'origine eucaryote ou procaryotes (archaébactéries et eubactéries). Les ARN polymérases ADN-dépendantes
20 eubactériennes sont caractérisées par une constitution multimérique simple et conservée notée « core enzyme », représentée par $\alpha\beta\beta'$, ou « holoenzyme » représentée par $\alpha\beta\beta'\sigma$ [Yura and Ishihama, Ann. Rev. Genet. (1979) 13 :59-97].

De nombreux travaux ont mis en évidence le rôle fonctionnel, au sein du complexe enzymatique multimérique, de la sous-unité β de l'ARN polymérase
25 eubactérienne. Les ARN polymérases archaébactérienne et eucaryote présentent, pour leur part, une structure plus complexe pouvant atteindre une dizaine, voire une trentaine de sous-unités [Pühlet et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1989) 86 :4569-4573].

Les gènes qui codent les différentes sous-unités $\alpha\beta\beta'\sigma$ de l'ARN
30 polymérase ADN-dépendante chez les eubactéries, respectivement les gènes *rpoA*, *rpoB*, *rpoC* et *rpoD*, sont classés en différents groupes comprenant les gènes codant pour des protéines constitutives des sous-unités ribosomiques ou pour des enzymes impliqués dans la réplication et la réparation du génome

[Yura and Yshihma, Ann. Rev. Genet. (1979) 13 :59-97]. Certains auteurs ont montré que les séquences des gènes *rpoB* et *rpoC* pouvaient être utilisées afin de construire des arbres phylogénétiques [Rowland et al. Biochem. Soc. Trans. (1992) 21 :40S] permettant de séparer les différents embranchements et sous-

5 embranchements parmi les règnes du vivant.

Avant d'exposer plus en détail l'invention, différents termes, utilisés dans la description et les revendications, sont définis ci-après :

- Par « acide nucléique extrait de bactéries » on entend soit l'acide nucléique total, soit l'ADN génomique, soit les ARN messagers, soit encore
- 10 l'ADN obtenu à partir de la transcription inverse des ARN messagers.
- Un « fragment nucléotidique » ou un « oligonucléotide » sont deux termes synonymes désignant un enchaînement de motifs nucléotidiques caractérisé par une séquence informationnelle des acides nucléiques naturels (ou éventuellement modifiés) et susceptibles de s'hybrider,
- 15 comme les acides nucléiques naturels, avec un fragment nucléotidique complémentaire ou sensiblement complémentaire, dans des conditions prédéterminées de stringence stricte. L'enchaînement peut contenir des motifs nucléotidiques de structure différente de celle des acides nucléiques naturels. Un fragment nucléotidique (ou oligonucléotide) peut contenir par
- 20 exemple jusqu'à 100 motifs nucléotidiques. Il contient généralement au moins 8, et en particulier au moins 12 motifs nucléotidiques, en particulier de 18 à 35, et peut être obtenu à partir d'une molécule d'acide nucléique naturelle et/ou par recombinaison génétique et/ou par synthèse chimique.
- Un motif nucléotidique est dérivé d'un monomère qui peut être un
- 25 nucléotide naturel d'acide nucléique dont les éléments constitutifs sont un sucre, un groupement phosphate et une base azotée choisie parmi l'adénine (A), la guanine (G), l'uracile (U), la cytosine (C), la thymine (T) ; ou bien le monomère est un nucléotide modifié dans l'un au moins des trois éléments constitutifs précédents ; à titre d'exemple, la modification peut intervenir soit au niveau des bases, avec des bases modifiées telles
- 30 que l'inosine, qui peut s'hybrider avec toute base A, T, U, C ou G, la méthyl-5-désoxycytidine, la désoxyuridine, la diméthylamino-5-désoxyuridine ou toute autre base modifiée capable d'hybridation, soit au

niveau du sucre, par exemple le remplacement d'au moins un désoxyribose par un polyamide [Nielsen PE et al., Science (1991) 254 :1497-1500], soit encore au niveau du groupement phosphate, par exemple par remplacement par des esters choisis notamment parmi les

5 diphosphates, les alkylphosphonates et les phosphorothioates.

Par « hybridation », on entend le processus au cours duquel, dans des conditions appropriées, deux fragments nucléotidiques ayant des séquences suffisamment complémentaires sont susceptibles de s'associer par des liaisons hydrogène stables et spécifiques, pour former un double

10 brin. Les conditions d'hybridation sont déterminées par la « stringence », c'est à dire la rigueur des conditions opératoires. L'hybridation est d'autant plus spécifique qu'elle est effectuée à plus forte stringence. La stringence est fonction notamment de la composition en bases d'un duplex sonde/cible, ainsi que par le degré de mésappariement entre deux acides

15 nucléiques. La stringence peut également être fonction des paramètres de la réaction d'hybridation, tels que la concentration et le type d'espèces ioniques présentes dans la solution d'hybridation, la nature et la concentration d'agents dénaturants et/ou la température d'hybridation. La stringence des conditions dans lesquelles une réaction d'hybridation doit

20 être réalisée dépend notamment des sondes utilisées. Toutes ces données sont bien connues et les conditions appropriées peuvent éventuellement être déterminées dans chaque cas par des expériences de routine. En général, selon la longueur des sondes utilisées, la température pour la réaction d'hybridation est comprise entre environ 20 et 65°C, en particulier

25 entre 35 et 65°C dans une solution saline à une concentration d'environ 0,8 à 1 M.

- Une « sonde » est un fragment nucléotidique possédant une spécificité d'hybridation dans des conditions déterminées pour former un complexe d'hybridation avec un acide nucléique ayant, dans le cas présent, une
- 30 séquence nucléotidique comprise soit dans un ARN messenger, soit dans un ADN obtenu par transcription inverse dudit ARN messenger, produit de transcription ; une sonde peut être utilisée à des fins de diagnostic (notamment sondes de capture ou de détection) ou à des fins de thérapie,

- Une « sonde de capture » est une sonde immobilisée ou immobilisable sur un support solide par tout moyen approprié, par exemple par covalence, par adsorption, ou par synthèse directe sur un solide. Des exemples de supports comprennent les plaques de microtitration et les puces à ADN.
- 5 - Une « sonde de détection » est une sonde marquée au moyen d'un agent marqueur choisi par exemple parmi les isotopes radioactifs, les enzymes, en particulier les enzymes susceptibles d'agir sur un substrat chromogène, fluorigène ou luminescent (notamment une peroxydase ou une phosphatase alcaline), les composés chimiques chromophores, les
10 composés chromogènes, fluorigènes ou luminescents, les analogues des bases nucléotidiques et les ligands tels que la biotine.
- Une « sonde d'espèce » est une sonde permettant l'identification spécifique de l'espèce d'une bactérie.
- Une « sonde de genre » est une sonde permettant l'identification
15 spécifique du genre d'une bactérie.
- Une « amorce » est une sonde comprenant par exemple 10 à 100 motifs nucléotidiques et possédant une spécificité d'hybridation dans des conditions déterminées pour les réactions d'amplification enzymatique.
- Par « réaction d'amplification » on entend une réaction de polymérisation
20 enzymatique, par exemple dans une technique d'amplification telle que la PCR, initiée par des oligonucléotides amorces et utilisant une ADN polymérase.
- Par « réaction de séquençage », on entend l'obtention de la séquence d'un fragment d'acide nucléique ou d'un gène complet par un procédé de
25 polymérisation abortive à partir d'amorces oligonucléotidiques et utilisant lesdits didésoxynucléotides (Sanger F, Coulson AR (1975), J.Mol.Biol. 94 : 441) ou hybridations multiples avec des sondes multiples fixées sur support solide telles qu'utilisées dans les puces ADN par exemple.

Les séquences des gènes *rpoB* des bactéries *Streptococcus pneumoniae*,
30 *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans* et *Streptococcus agalactiae* ont été décrites dans la littérature.

Les inventeurs ont déterminé les séquences complètes des gènes *rpoB* d'autres espèces de bactéries du genre *Streptococcus* et apparentées:

Streptococcus anginosus et *Streptococcus equinus*, d'*Abiotrophia defectiva*, et une très large portion du gène pour *Streptococcus mutans* et *Enterococcus faecalis*. Ces espèces ont été choisies par les inventeurs comme représentant les principaux groupes génétiques déterminés sur la base de l'étude du gène
5 16S dans les bactéries du genre *Streptococcus* et genres apparentés, encadrant l'ensemble des espèces actuellement décrites dans ce genre, de sorte que l'alignement des séquences *rpoB* obtenues chez ces espèces puisse encadrer vraisemblablement l'ensemble des séquences *rpoB* de toutes les espèces de ces genres bactériens plus précisément, il s'agit donc des espèces
10 phylogénétiquement les plus divergentes parmi l'ensemble des espèces actuellement décrites dans ce genre, de sorte que l'alignement des séquences *rpoB* obtenu chez ces espèces puisse encadrer phylogénétiquement vraisemblablement l'ensemble des séquences *rpoB* de toutes les espèces de ce genre bactérien.

15 A partir de ces séquences complètes ou quasi complètes et après de nombreuses tentatives infructueuses tel que rapporté dans les exemples 1 et 2 ci-après, les inventeurs ont mis en évidence les séquences consensus et spécifiques SEQ.ID. n° 6 et 7 suivantes :

- SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3', et
- 20 - SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTTRTCATCAACCATGTG-3',

dans lesquelles :

- N représente l'inosine ou l'un des 4 nucléotides A, T, C ou G,
- R représente A ou G,
- M représente A ou C, et
- 25 - Y représente C ou T,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

Les inventeurs ont déterminé lesdites séquences SEQ.ID.n°6 et 7 comme étant non seulement consensuelles entre toutes les bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés mais en outre spécifiques de la
30 famille des bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

A la position correspondant à un nucléotide N, Y, M ou R dans les séquences SEQ.ID. n°6 et 7 on trouve des nucléotides variables dans les séquences cibles complémentaires en fonction de l'espèce de la bactérie

considérée, mais tous les autres nucléotides sont conservés dans toutes les espèces des bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

Des séquences SEQ.ID n°6 et 7 ainsi définies sont présentes dans les gènes *rhoB* de toute bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés et spécifiques des bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés et peuvent donc fournir des sondes de genre ou des amorces d'amplification pour détecter toute bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

A cet effet, la présente invention a donc pour objet un oligonucléotide qui comprend une séquence d'au moins 8, de préférence au moins 12, de préférence encore de 18 à 35, motifs nucléotidiques, dont au moins une séquence de 8, de préférence 12, de préférence encore 18 motifs consécutifs inclus dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 6 et 7 suivantes :

- SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3', et
- SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTTRTCATCAACCATGTG-3',

dans lesquelles :

- N représente l'inosine ou l'un des 4 nucléotides A, T, C ou G,
- R représente A ou G,
- M représente A ou C, et
- Y représente C ou T,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

La présente invention a également pour objet un mélange d'oligonucléotides, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un mélange équimolaire de d'oligonucléotides selon l'invention, ayant tous une séquence différente et comprenant tous une séquence incluse dans SEQ ID n°6 ou tous une séquence incluse dans SEQ ID n°7.

Plus particulièrement, la présente invention a également pour objet un mélange de dits oligonucléotides, constitué d'un mélange équimolaire de 32 oligonucléotides de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence encore au moins 18 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante :

- SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3',
- dans laquelle :

- R représente A ou G,
- Y représente C ou T,
- M représente A ou C, et
- N représente A, T, C ou G,

5 et les séquences inverses et séquences complémentaires.

La présente invention a également pour objet un mélange de dits oligonucléotides, constitué d'un mélange équimolaire de 8 oligonucléotides de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence encore au moins 18 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante :

10 - SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3',
dans laquelle :

- R représente A ou G,
- Y représente C ou T,
- M représente A ou C, et
- 15 - N représente l'inosine,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

La présente invention a également pour objet un mélange de dits oligonucléotides, constitué d'un mélange équimolaire de 16 oligonucléotides de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence encore au moins 21 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante :

20 - SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTRTCATCAACCATGTG-3',
dans laquelle :

- R représente A ou G, et
- N représente A, T, C ou G,

25 et les séquences inverses et séquences complémentaires.

La présente invention a également pour objet un mélange de dits oligonucléotides, constitué d'un mélange équimolaire de 4 oligonucléotides de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence encore au moins 21 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante :

30 - SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTRTCATCAACCATGTG-3',
dans laquelle :

- R représente A ou G, et
- N représente l'inosine,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

Lesdits mélanges d'oligonucléotides peuvent s'hybrider avec une séquence complémentaire incluse dans le gène *rpoB* de toutes les bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés et peuvent donc être
5 utilisés à titre de sonde de genre ou amorces d'amplification pour la détection ou respectivement l'amplification d'un fragment de gène *rpoB* d'une dite bactérie.

Pour préparer un dit mélange équimolaire d'oligonucléotides selon les synthèses d'oligonucléotides connues de l'homme de l'art, il suffit de mettre en œuvre un mélange équimolaire de 4 ou 2 nucléotides pour les nucléotides
10 correspondant à N ou respectivement K, N, R ou Y, à savoir :

- un mélange équimolaire des 4 nucléotides, A, T, C et G pour les nucléotides correspondant à N dans lequel N représente A, T, C ou G, et
- un mélange équimolaire des 2 nucléotides T et G pour les nucléotides correspondant à K,
- 15 - un mélange équimolaire des 2 nucléotides A et C pour les nucléotides correspondant à N,
- un mélange équimolaire des 2 nucléotides A et G pour les nucléotides correspondant à R, et
- un mélange équimolaire des 2 nucléotides C et T pour un nucléotide
20 représenté par Y.

On obtient ainsi un mélange équimolaire de 32 ($2^3 \times 4$) et 16 ($2^2 \times 4$) nucléotides de séquences différentes pour respectivement les 2 séquences SEQ ID n°6 et 7.

Dans lesdits mélanges équimolaires d'oligonucléotides selon l'invention,
25 du fait que « N » représente l'inosine qui peut s'hybrider avec toute base ou un mélange équimolaire des 4 bases A, T, C, G, les séquences SEQ.ID.n° 6 et 7 peuvent s'hybrider avec la séquence complémentaire incluse dans le gène *rpoB* de toutes les bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

En outre, ces séquences consensus SEQ.ID. n° 6 et SED ID n° 7
30 encadrent des séquences hyper variables dont la séquence est spécifique pour chaque espèce de bactérie du genre *Streptococcus*. Ces séquences encadrées par SEQ.ID. n° 6 et 7 peuvent donc être utilisées à titre de sonde d'espèce des bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

De plus, les séquences SEQ.ID. n°6 et 7 ont été déterminées comme encadrant un fragment du gène *rpob* comprenant une zone dont la longueur variable est d'environ 720 pb et comme comprenant les plus courtes séquences spécifiques pour chaque espèce de la bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

Les inventeurs ont ainsi pu mettre en évidence des sondes d'espèce pour chacune des 28 espèces de bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés étudiées correspondant aux séquences SEQ.ID.n° 8 à 35 décrites à l'exemple 2 ci-après, encadrées par les séquences consensus SEQ.ID.n° 6 et 7.

Un autre objet de la présente invention est un gène ou fragment de gène *rpob* d'une bactérie du genre *streptococcus* ou d'un desdits 4 genres apparentés, excepté les séquences SEQ ID n°11, 12, 14 et des bactéries *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans* et *Streptococcus agalactiae*, les séquences inverses et séquences complémentaires, caractérise en ce qu'il comprend une séquence telle que décrite dans les séquences SEQ ID n° 8 à 35 décrites à l'exemple 2.

Un autre objet de la présente invention est la séquence complète du gène *rpoB* des bactéries, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus equinus* et *Abiotrophia defectiva* telles que décrites dans les séquences SEQ.ID. n° 1 à 3, utiles notamment pour un procédé selon l'invention.

Un autre objet de la présente invention est la séquence quasi complète du gène *rpob* de la bactérie *Enterococcus faecalis* telle que décrite dans la séquence SEQ.ID n° 5, utile notamment pour un procédé selon l'invention.

Dans les séquences SEQ.ID n° 1 à 3 et 5 et 8 à 35 décrites dans le listage de séquences en fin de description :

- le nucléotide M représente A ou C,
- le nucléotide K représente T ou G,
- le nucléotide R représente A ou G,
- le nucléotide W représente A ou T,
- le nucléotide Y représente C ou T,
- le nucléotide N représente A, T, C, G ou I,
- le nucléotide S représente C ou G,
- le nucléotide V représente A, C ou G.

Les séquences consensus tirées de SEQ.ID.n° 6 et 7 mises en évidence selon la présente invention, peuvent être utilisées à titre de sonde de genre, d'amorce d'amplification ou de réaction de séquençage dans des procédés de détection de bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés par

5 identification moléculaire.

Les séquences tirées des séquences SEQ.ID.n° 6 et 7 permettent donc non seulement de préparer des sondes de genre des bactéries du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés mais aussi de détecter et identifier l'espèce de ladite bactérie par amplification et séquençage en utilisant lesdites

10 séquences comme amorces.

La séquence complète du gène *rpoB* peut être utilisée pour identifier la bactérie pas seulement par l'étude de sa séquence primaire, mais aussi, par l'étude des structures secondaire et tertiaire de l'ARN messager provenant de la transcription de la séquence complète d'ADN.

Un autre objet de la présente invention est un oligonucléotide ou un fragment de gène *rpoB* ayant une séquence comprise ou consistant dans les séquences SEQ.ID.n°8 à 35, y compris donc les séquences SEQ ID n°11, 12, 14 et 22 des bactéries *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans* et respectivement *Streptococcus agalactiae* et parmi les

15

20 oligonucléotides ou fragments de séquences inverses ou complémentaires tels que définis ci-dessus.

Les inventeurs, après analyse des différentes séquences, ont déterminé par comparaison deux à deux de toutes les séquences SEQ ID n°8 à 35, que, le taux d'homologie entre deux séquences différentes parmi lesdites séquences SEQ ID n°8 à 35 est au maximum de 98,7%. En dessous de 98,7% d'homologie entre les séquences, celles-ci identifient des bactéries d'espèces différentes. En conséquence, la présente invention a également pour objet des oligonucléotides ou des fragments de gènes *rpoB* de séquences comprises ou consistant dans lesdites séquences SEQ ID n°8 à 35, les séquences inverses, les séquences complémentaires ainsi que dans les séquences présentant au moins 98,7% d'homologie (c'est-à-dire un taux d'au moins 98,7% de similitude dans les séquences) par rapport aux dites séquences SEQ ID n°8 à 35, les séquences inverses et respectivement séquences complémentaires.

Les oligonucléotides, fragments de gène et gènes objets de la présente invention, ont été décrits comme comportant des séquences d'ADN, c'est-à-dire avec des oligonucléotides A, T, C et G. Toutefois, la présente invention a également pour objet des oligonucléotides comprenant des séquences d'ARN correspondantes, c'est-à-dire dans lesquelles T est remplacé par U.

Dans la présente description, on entend par "séquences inverses et séquences complémentaires", les séquences suivantes :

- la séquence inverse de ladite séquence,
- la séquence complémentaire de ladite séquence, et
- la séquence complémentaire de la séquence inverse de ladite séquence.

Les séquences SEQ.I. n°1 à 35 peuvent être préparées par génie génétique et/ou par synthèse chimique, notamment par synthèse automatique, en utilisant les techniques bien connues de l'homme du métier.

Une première application d'un oligonucléotide selon l'invention est son utilisation comme sonde pour la détection, dans un échantillon biologique, de bactéries de l'une des espèces du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés qui comprend une séquence nucléotidique dans l'une des séquences SEQ.ID. n°6 à 35, et leurs séquences inverses ou complémentaires.

Un oligonucléotide comprenant les séquences SEQ.ID.n° 6 et 7 sera utilisé à titre de sonde de genre et un oligonucléotide comprenant une

séquence comprise dans ou comprenant l'une des séquences SEQ.ID. n° 8 à 35, sera utilisée à titre de sonde d'espèce.

Plus particulièrement, la présente invention a pour objet un oligonucléotide comprenant une séquence spécifique d'une espèce d'une
5 bactérie du genre streptococcus et dits genres apparentés, de préférence d'au moins 20 nucléotides consécutifs, de préférence encore au moins 30 nucléotides consécutifs inclus dans l'une des dites séquences SEQ ID n°8 à 35, ou le cas échéant un mélange équimolaire de dits oligonucléotides de séquences différentes.

10 De préférence, lesdites séquences comprises dans l'une des séquences SEQ ID n°8 à 35, ayant de préférence au moins 20 nucléotides, de préférence encore au moins 30 nucléotides consécutifs inclus dans l'une des séquences SEQ ID n°8 à 35, constituent les séquences spécifiques des différentes espèces respectives les plus courtes, utilisables comme sonde d'espèces des bactéries
15 *Streptococcus* et des dits 4 genres apparentés concernées.

Les sondes selon l'invention peuvent être utilisées, à des fins de diagnostic, comme mentionné précédemment, par la détermination de la formation ou de l'absence de formation d'un complexe d'hybridation entre la sonde et un acide nucléique cible dans un échantillon, selon toutes les
20 techniques d'hybridation connues et notamment les techniques de dépôt ponctuel sur filtre, dites « DOT-BLOT » [Maniatis et al. (1982) Molecular Cloning, Cold Spring Harbor], les techniques de transfert d'ADN dites « SOUTHERN BLOT » [Southern E.M., J. Mol. Biol. (1975) 98 :503], les techniques de transfert d'ARN dites « NORTHERN BLOT », ou les techniques
25 dites « sandwich », en particulier avec une sonde de capture et/ou une sonde de détection, lesdites sondes étant capables de s'hybrider avec deux régions différentes de l'acide nucléique cible, et l'une au moins desdites sondes (généralement la sonde de détection étant capable de s'hybrider avec une région de la cible qui est spécifique de l'espèce, étant entendu que la sonde de
30 capture et la sonde de détection doivent avoir des séquences nucléotidiques au moins partiellement différentes.

L'acide nucléique à détecter (cible) peut être de l'ADN ou de l'ARN (le premier obtenu après amplification par PCR). Dans le cas de la détection d'une

cible de type acide nucléique double brin, il convient de procéder à la dénaturation de ce dernier avant la mise en œuvre du procédé de détection. L'acide nucléique cible peut être obtenu par extraction selon les méthodes connues des acides nucléiques d'un échantillon à examiner. La dénaturation
5 d'un acide nucléique double brin peut être effectuée par les méthodes connues de dénaturation chimique, physique ou enzymatique, et en particulier par chauffage à une température appropriée, supérieure à 80°C.

Pour mettre en œuvre les technique d'hybridation précitées, et en particulier les techniques « sandwich », une sonde de l'invention, appelée sonde
10 de capture est immobilisée sur un support solide, et une autre sonde de l'invention, appelée sonde de détection, est marquée avec un agent marqueur. Les exemples de support et d'agent marqueur sont tels que définis précédemment.

De manière avantageuse, une sonde d'espèce est immobilisée sur un
15 support solide, et une autre sonde d'espèce est marquée par un agent marqueur.

Une autre application d'un oligonucléotide de l'invention est son utilisation comme amorce nucléotidique comprenant une oligonucléotide monocaténaire choisi parmi les oligonucléotides ayant une séquence d'au moins 12 motifs
20 nucléotidiques inclus dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 6 à 35, qui est utilisable dans la synthèse d'un acide nucléique en présence d'une polymérase par un procédé connu en soi, notamment dans des méthodes d'amplification utilisant une telle synthèse en présence d'une polymérase (PCR, RT-PCR, etc.). En particulier, une amorce de l'invention peut être utilisée pour la transcription
25 inverse spécifique d'une séquence d'ARN messager de bactérie d'une espèce du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés pour obtenir une séquence d'ADN complémentaire correspondante. Une telle transcription inverse peut constituer le premier stade de la technique RT-PCR, le stade suivant étant l'amplification par PCR de l'ADN complémentaire obtenu. On peut également
30 utiliser les amorces de l'invention pour l'amplification spécifique par réaction de polymérisation en chaîne de la séquence totale de l'ADN du gène *rpoB* d'une espèce du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

Selon un cas particulier ladite amorce comprenant un oligonucléotide de l'invention comprend en outre la séquence sens ou anti-sens d'un promoteur reconnu par une ARN polymérase (promoteurs T7, T3, SP6 par exemple [Studier FW, BA Moffatt (1986) J. Mol. Biol. 189 :113] : de telles amorces sont utilisables dans des procédés d'amplification d'acide nucléique faisant intervenir une étape de transcription, tels que, par exemple, les techniques NASBA ou 3SR [Van Gemen B. et al. Abstract MA 1091, 7th International Conference on AIDS (1991) Florence, Italy].

Un autre objet de l'invention est une amorce nucléotidique comprenant un oligonucéotide choisi parmi les oligonucléotides ayant une séquence comprenant l'une des séquences SEQ ID n° 6 à 35 ou une séquence incluse dans SEQ.ID. n° 6 à 35 qui est utilisable pour le séquençage total ou partiel du gène *rpoB* d'une souche quelconque d'une espèce du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

Le séquençage du gène *rpoB* partiel ou complet chez toute bactérie du genre *Streptococcus* et genres apparentés permet l'identification de toute bactérie *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés par analyse bio-informatique de cette séquence et la reconnaissance de nouvelles espèces de bactéries *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés inconnues.

De préférence, dans une utilisation comme amorce ou pour le séquençage des gènes *rpoB*, on utilise un dit mélange d'oligonucléotides selon l'invention, et de préférence encore des dits mélanges d'oligonucléotides consistant dans les séquences SEQ ID n°6 et SEQ ID n°7.

Plus précisément, la présente invention fournit un procédé de détection par identification d'une bactérie de l'une des espèces du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés caractérisé en ce qu'on utilise :

- un gène *rpoB* complet ou quasi complet de ladite bactérie selon la présente invention ainsi qu'un gène ou fragment de gène *rpoB* d'une bactérie *streptococcus pyogenes*, *streptococcus pneumoniae*, *streptococcus mutans* et *streptococcus agalactiae* comprenant une séquence telle que décrite respectivement dans les séquences SEQ ID n°11, 12, 14 et 22, les séquences inverses et les séquences complémentaires, utiles notamment comme sonde d'espèces et/ou

5 - un dit fragment dudit gène *rpoB* de ladite bactérie selon la présente invention, comprenant une séquence nucléotidique choisie parmi l'une des séquences SEQ.ID.n° 8 à 35, les séquences inverses et les séquences complémentaires, utile notamment comme sonde d'espèces, et/ou

- un oligonucléotide selon la présente invention comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ ID n°8 à 35, les séquences inverses et les séquences complémentaires, utile notamment comme sonde d'espèces, et/ou

10 - un oligonucléotide ou dit mélange d'oligonucléotides selon la présente invention comprenant une séquence constituée de motifs nucléotidiques consécutifs, inclus dans l'une des séquences SEQ.ID.n°6 et 7, utile notamment comme sonde de genre ou amorce d'amplification.

15 De préférence, dans ledit procédé de détection selon l'invention, on utilise :

- un dit fragment du gène *rpoB* de ladite bactérie comprenant une séquence choisie parmi l'une des séquences SEQ ID n° 8 à 35 ou un oligonucléotide de séquence comprise dans l'une des dites séquences SEQ ID 20 n°8 à 35, les séquences inverses et séquences complémentaires, et/ou

- au moins un dit mélange d'oligonucléotides selon la présente invention, dont les séquences de préférence consistent dans les séquences SEQ ID n° 6 et 7, et leurs séquences inverses et séquences complémentaires dans lesquelles de préférence encore N représente l'inosine.

25 Dans un premier mode de réalisation d'un procédé de détection selon l'invention, on cherche à mettre en évidence la présence d'une bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés, on réalise les étapes dans lesquelles :

30 1. on met en contact au moins une sonde de genre comprenant un dit mélange d'oligonucléotides de séquences comprenant ou comprises dans l'une des séquences SEQ.ID.n° 6 et 7, les séquences inverses ou les séquences complémentaires selon l'invention, avec un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins

une telle bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés, et

2. on détermine la formation ou l'absence de formation d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde de genre et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine la présence d'une dite bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés s'il y a formation d'un complexe d'hybridation.

Dans une deuxième mode de réalisation d'un procédé de détection d'une bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés, on réalise les étapes dans lesquelles :

1. On met en contact des amorces d'amplification comprenant desdits mélanges d'oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 6 et 7, séquences inverses et séquences complémentaires selon l'invention, avec un échantillon contenant ou susceptibles de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés avec ;
 - comme amorce 5' : un dit mélange d'oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans la séquence SEQ.ID.n° 6, ou de préférence consistant dans ladite séquence SEQ ID n° 6 complète, ou une séquence complémentaire selon l'invention ;
 - comme amorce 3' : un dit mélange d'oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans la séquence la séquence SEQ.ID.n° 7 ou de préférence consistant dans ladite séquence SEQ ID n° 7 complète, ou respectivement une séquence complémentaire selon l'invention.
2. On réalise une amplification d'acides nucléiques par réaction de polymérisation enzymatique et on détermine l'apparition ou l'absence d'un produit d'amplification, et on détermine ainsi la présence d'une dite bactérie dans l'échantillon si un produit d'amplification est apparu.

Ce deuxième mode de réalisation peut être utilisé pour détecter spécifiquement le genre d'une bactérie du genre *streptococcus* ou desdits 4 genres apparentés.

Mais, à l'étape 2 de ce deuxième mode de réalisation, on peut chercher à détecter spécifiquement une espèce donnée d'une bactérie du genre *Streptococcus* choisie parmi les espèces *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus suis*, *Streptococcus acidominimus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus difficilis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus equinus*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus bovis*, *Granulicatella adjacens*, *Abiotrophia defectiva*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus sacharolyticus*, *Gemella haemolysans* et *Gemella morbillorum*., comme décrit dans la variante de réalisation d'un procédé de détection spécifique d'une espèce de dites bactéries, décrite ci-après

Comme cela a été précédemment exposé en introduction, les genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Granulicatella*, *Abiotrophia*, et *Gemella* comportent plus d'espèces bactériennes que celles qui ont été effectivement séquencées dans ce travail. Toutefois, les espèces séquencées ont été choisies telles qu'elles encadrent toutes les espèces connues dans ces genres bactériens et sont en nombre suffisant pour démontrer l'application de la séquence *rpoB* à l'identification des espèces de ces genres.

Dans une variante de réalisation d'un procédé de détection spécifique d'une espèce des dites bactéries selon l'invention, on réalise les étapes dans lesquelles :

1- on met en contact un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie, avec au moins une sonde d'espèce consistant dans un dit gène, dit fragment de gène ou dit oligonucléotide comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID n° 8 à 35, de préférence un oligonucléotide consistant dans l'une des dites séquences SEQ.ID. n° 8 à 35, les séquences inverses et séquences complémentaires selon l'invention, et

2- on détermine la formation ou l'absence d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine ainsi

la présence de ladite bactérie dans l'échantillon s'il y a formation d'un complexe d'hybridation.

Dans une autre variante de réalisation du procédé selon l'invention dans lequel on cherche à détecter spécifiquement une espèce donnée d'une bactérie du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés choisie parmi les 28 espèces citées ci-dessus, le procédé comprend les étapes dans lesquelles, dans un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une dite bactérie :

- a) on réalise une réaction de séquençage d'un fragment du gène *rpoB* amplifié d'une dite bactérie donnée à l'aide des amorces nucléotidiques consistant dans desdits mélanges d'oligonucléotides comprenant des séquences incluses dans la séquence SEQ.ID. n° 6 comme amorce 5', et SEQ.ID. n° 7 comme amorce 3', de préférence les séquences consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 6 et 7, et leurs séquences complémentaires, et
- b) on détermine la présence ou l'absence de l'espèce donnée de ladite bactérie en comparant la séquence dudit fragment obtenu avec la séquence du gène complet *rpoB* de ladite bactérie ou la séquence d'un fragment du gène *rpoB* de ladite bactérie comprenant lesdites séquences n° 8 à 35 et séquences complémentaires selon l'invention, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si la séquence du fragment obtenue est identique à la séquence connue du genre ou du fragment de gène *rpoB* de ladite bactérie.

La présente invention a également pour objet une trousse de diagnostic utile dans un procédé selon l'invention comprenant au moins un dit fragment de gène ou dit oligonucléotide de séquence comprise ou consistant dans les séquences SEQ.ID. n° 8 à 35 ou un dit oligonucléotide ou mélange d'oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans une des séquences SEQ.ID. n° 6 et 7, et/ou au moins un dit fragment de gène *rpoB* d'une dite bactérie comprenant les séquences SEQ.ID. n° 8 à 35, et les séquences complémentaires selon l'invention.

Avantageusement, un trousse selon la présente invention comporte des dits oligonucléotides sous forme de "biopuces", c'est-à-dire fixés sur des

supports solides, notamment en verre, selon le procédé décrit dans le brevet US 5 744 305 (Affymetrix, Fodor et al) en utilisant la stratégie de reséquençage décrite dans la demande WO 95/11995 (Affymax, Chee et al) ou selon la méthode décrite par A Troesch et al. dans J. Clin. Microbiol., vol. 37(1), p 49-55, 1999. Les oligonucléotides synthétisés sur la "biopuce" réalisent le re-séquençage de la région hyper variable du gène *rpoB*. Ce procédé présente un avantage considérable en terme de coût de production et sans compromis sur la qualité de l'identification des différentes espèces de part le choix de ces séquences d'identification. De préférence, ces oligonucléotides fixés sur le support solide de la "biopuce" comportent de 10 à 30 bases par exemple 20 bases, avec une position d'interrogation située dans la région centrale comme par exemple en 12ème position par rapport à l'extrémité 3' de la séquence pour des oligonucléotides de 20 bases. Un autre exemple consiste à utiliser des oligonucléotides de 17 bases, avec 2 positions d'interrogations : une en 10ème et une en 8ème position. D'autres oligonucléotides ont des longueurs comprises entre 10 et 25 nucléotides. Les positions d'interrogation varient alors en fonction de la longueur de l'oligonucléotide:

L'analyse est effectuée sur le système complet GeneChip® (référence 900228, Affymetrix, Santa Clara, CA) qui comprend le lecteur GeneArray®, le four d'hybridation GeneChip®, la station fluidique GeneChip® et le logiciel d'analyse GeneChip®.

Un oligonucléotide selon l'invention peut aussi être utilisé à titre de sonde de thérapie génique pour traiter les infections provoquées par une souche appartenant à une espèce du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés, ladite sonde comprenant un oligonucléotide tel que défini précédemment. Cette sonde de thérapie génique, capable de s'hybrider sur l'ARN messager et/ou sur l'ADN génomique desdites bactéries, peut bloquer les phénomènes de traduction et/ou transcription et/ou de réplication.

Le principe des méthodes de thérapie génique est connu et repose notamment sur l'utilisation d'une sonde correspondant à un brin anti-sens : la formation d'un hybride entre la sonde et le brin sens est capable de perturber au moins l'une des étapes du décryptage de l'information génétique. Les sondes de thérapie génique sont donc utilisables comme médicaments antibactériens,

permettant de lutter contre les infections causées par les bactéries des espèces du genre *Streptococcus* et desdits 4 genres apparentés.

L'invention sera mieux comprise à l'aide de l'exposé ci-après, divisé en exemples, qui concernent des expériences effectuées dans le but de réaliser
5 l'invention et qui sont données à titre purement illustratif.

La figure 1 représente la visualisation des produits d'amplification par coloration au bromure d'éthidium après électrophorèse sur un gel d'agarose obtenu à l'exemple 3.

10 Exemple 1. Séquence du gène *rpoB* de trois espèces du genre *Streptococcus* et genre apparenté : *Abiotrophia defectiva*, *Streptococcus anginosus* et *Streptococcus equinus*.

La séquence complète du gène *rpoB* des bactéries des espèces *Abiotrophia defectiva*, *Streptococcus anginosus* et *Streptococcus equinus* a été
15 déterminée par amplification enzymatique et séquençage automatique disponible chez les Streptocoques. Le choix de ces espèces a été basé sur l'analyse de l'arbre 16S qui montre une divergence génétique couvrant l'ensemble de l'arbre phylogénétique des streptocoques.

Stratégie et Séquençage :

20 Plusieurs séquences partielles de 510 pb de gènes *rpo-B* sont disponibles sur GenBank pour les 10 espèces de streptocoques suivantes : *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus anginosus* et
25 *Granulicatella adjacens*. [Majewski, J., Zawadzki, P., Pickerill, P., Cohan, F.M. and Dowson, C.G. Barriers to genetic exchange between bacterial species: *Streptococcus pneumoniae* transformation. J. Bacteriol. 182, 1016-1023 (2000)], mais les amorces utilisées par ces auteurs n'amplifient qu'une fraction des espèces du genre *Streptococcus* et il n'a donc pas été possible de mener à bien
30 notre travail sur la base de ces seules données. Il a donc fallu déterminer des amorces capables d'amplifier l'ensemble des souches de streptocoques, enterocoques, *Abiotrophia*, *Gemella*, et *Granulicatella*. Ces amorces devaient en outre encadrer une région présentant une diversité génétique suffisante pour

permettre de distinguer deux espèces entre elles. Cependant, l'alignement de ces séquences partielles publiées a permis de déterminer les amorces communes suivantes : (la numération se réfère à la séquence complète du *Streptococcus. pyogenes*)

- 5 SEQ ID N° 36 : 5'- AGACGGACCTTCTATGGAAAA -3' (amorce 748F) ,
SEQ ID N° 37 : 5'- GGACACATACGACCATAGTG -3' (amorce 116R), et
SIQ N° 38 : 5'- GTTGTAACCTTCCCAWGTGTCAT -3' (amorce 830R).

Ces amorces ont permis de séquencer la partie centrale du gène *rpoB* de 714pb pour les cinq espèces choisies (*Streptococcus equinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus anginosus*, *Enterococcus faecalis*, et *Abiotrophia defectiva*). A partir de ce fragment central, le séquençage a été poursuivi par la technique dite du génome Walker.

En dehors de cette zone publiée [Majewski, J., et al. J. Bacteriol. 2002, 182, 1016-1023], l'alignement des deux séquences complètes disponibles dans GenBank (*Streptococcus pneumoniae* [GenBank numéro d'accès AE008542] et *Streptococcus pyogenes* [GenBank numéro d'accès AE006480]) ont permis de choisir les amorces suivantes :

- SEQ ID N° 39 : 5'- GTCTTCWTGGGYGATTTC -3' (amorce 2215R),
- SEQ ID N° 40 : 5'- ACCGTGGIGCWTGGTTRGAAT -3' (amorce 2057R),
20 - SEQ ID N° 41 : 5'- AACCAATTCCGYATYGGTYT -3' (amorce 1252R),
- SEQ ID N° 42 : 5'- AGIGGGTTTAACATGATGTC -3' (amorce 371F),
- SEQ ID N° 43 : 5'- AGIGCCCAAACCTCCATCTC -3' (amorce 730F), et
- SEQ ID N° 44 : 5'- CTCCAAGTGAACAGATGTGTA -3' (amorce 585R).

Ces amorces ont permis d'étendre la région séquencée pour certaines des cinq souches choisies. De façon tout à fait inattendue, *E. faecalis* n'est pas amplifiée par ces amorces ; mais on a observé que la zone partielle séquencée présentait une homologie avec le gène *rpoB* de *Listeria monocytogenes*, c'est à dire avec une bactérie appartenant à un genre bactérien différent ce qui ne pouvait absolument pas être déduit des données existantes, on a donc choisi des amorces dans le gène *rpoB* de *Listeria* pour amplifier le gène *rpoB* de *Enterococcus faecalis*.

- SEQ ID N° 45 : 5'- TTACCAAACCTTAATTGAGATTCAAAC -3' (amorce 180F)
- SEQ ID N° 46 : 5'- AGTATTTATGGGTGATTTC -3' (amorce 410F)

- SEQ ID N°47 : 5'- GGACGTTATAAAATCAACAAAAAATT- 3' (amorce 910F)
- SEQ ID N°48 : 5'- AGTTATAACCATCCCAAGTCATG- 3' (amorce 2430R)
- SEQ ID N°49 : 5'- TGAAGTTTATCATCAACCATGTG- 3' (amorce 3280R)
- SEQ ID N°50 : 5'- CCCAAAACGTTGTCCACC- 3' (amorce 3360R)

5 Les séquences partielles ainsi obtenues pour les cinq souches choisies (*Streptococcus equinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus anginosus*, *Enterococcus faecalis*, *Abiotrophia defectiva*) ont permis de choisir les amorces suivantes :

- SEQ ID N°51 : 5'- AACCAAGCYCGGTTAGGRAT -3' (amorce 520R)
 - 10 - SEQ ID N°52 : 5'- ATGTTGAACCCACTIGGGGTGCCAT -3' (amorce 2881F)
- pour le séquençage des zones C- et N- terminales par Génome Walker.

Le séquençage est alors complet, comme en témoignent la détermination de la région codante, et l'alignement des protéines traduites des séquences nucléotidiques avec les deux protéines RpoB publiées de *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus pyogenes*.

15 Plusieurs amorces consensus potentielles ont fait l'objet d'investigations pour obtenir un fragment susceptible de conduire à la séquence complète des gènes *rpoB* par élongations successives à partir d'une série d'amorces spécifiques.

20 Dans chacune des étapes ci-dessus, un grand nombre de tentatives avec des amorces théoriquement ou potentiellement appropriées ont échoué avant de déterminer les amorces mentionnées ci-dessus pour permettre d'amplifier et de séquencer par étapes successives la totalité des gènes *rpoB* décrite ci-après.

25 Les réactions de séquençage ont été réalisées en utilisant les réactifs du kit ABI Prism dRhodamine Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin Elmer Applied Biosystems) selon les recommandations du fournisseur suivant le programme suivant : 30 cycles comprenant une étape de dénaturation à 94°C pendant 10 sec., une étape d'hybridation de l'amorce à 50°C pendant 10 sec. et une étape d'extension à 60°C pendant 2 minutes. Les produits de
30 séquençage ont été séparés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide sur un séquenceur 377 DNA Sequencer (Perkin) et analysés pour former des séquences consensus par le logiciel Sequence Assembler (Applied Biosystems).

Cette approche nous a permis de déterminer la séquence complète du gène *rpoB* chez deux espèces du genre *Streptococcus* et chez *Abiotrophia defectiva* :

SEQ.ID. n°1 : Séquence du gène *rpoB* de *Streptococcus anginosus*. Cette

- 5 séquence mesure 4 523 paires de bases , possède un contenu en cytosine plus guanosine de 41 % et est déposée dans GenBank sous le numéro d'accension AF 535183 :

5'-TCATACTTTTAGAGTCAGATTTAGCTGCTCTTTTTGTGCCTGTTTTGGGATTTTTGTCGTTTGT
CATCAAAATTAAAGATTCTGAAAATTACTCAAAAAGGATAAAATGAAAATTGCTACTCTATTCCA
10 TTAATAGAGAATGTAGAAAAGAAGGAGTAAAAAACTTGGCAGGACATGAAGTTCAATACGGG
AAACACCGTACTCGTCGTAGTTTTTCAAGAATCAAGGAAGTTCTTGATTACCAAATTTGATTG
AAATCCAGAGGATTTCGTTCAAAGATTTTCTTGACCATGGTTTGAAAGAAGTATTGAAGATGTA
CTTCCTATCTCAAACTTTACAGATACAATGGAGCTAGAGTTTGTGGTTATGAAATTAAAGGAT
CTAAATACACTTTAGAAGAAGCACGTATCCATGATGCCAGCTATTCTGCACCTATTTTTGTGAC
15 TTTCCGTTTGATTAATAAAGAAAAGTGGTGAATCAAAACCCAAGAAGTGTCTTTGGCGATTTC
CCAATCATGACAGAAATGGGAACTTTCATTATCAATGGTGGTGAGCGGATTATCGTATCTCAGC
TCGTTTCGTTCTCCAGGTGTTTACTTCAACGATAAAGTAGACAAAAATGGTAAAGTTGGTTATGG
TTCAACTGTCTCCTTAACCGTGGAGCTTGGTTAGAGCTGGAAACAGACTCAAAAGATATTGCT
TATACTCGGATTGACCGTACTCGTAAGATTCCGTTTACGACACTTGTTTCGTGCGCTTGGTTTTT
20 CTGGCGATGATGAAATCTTTGACATTTTCGGCGACAGCGATCTCGTTTCGCAACACGATTGAAAA
GGATATTCATAAAAATCCAATGGATTACGTTACGGATGAAGCGCTTAAAGAAATCTATGAACGT
CTTCGTCCAGGTGAGCCTAAAACAGCTGATAGTTCACGTAGTCTATTGGTTCGCTCGTTTCTTTG
ATCCACATCGTTACGACTTGGCGGCAGTTGGTCTGTTATAAAATCAATAAAAAATTAACATTAA
AACACGTTTGTAAATCAAACGATTGCAGAGCCTTTGGTAGATCCAGAAACAGGTGAAATCTTG
25 GTTGAAGCTGGAACGGTTATGACGCGTAGTGTTCATTGATAGCATTGCAGAATACTTGGACGGTG
ATTTGAATAAAATCACTTATATTCCAAATGATGCAGCTGTGTTAACAGAGCCAGTTGTTCTTCA
AAAATTCAAAGTGGTGGCGCCAACTGATCCAGATCGTGTGGTGACTATTATTGGTAATGCCAAC
CCAGGAGATCGAGTTCATACGATTACGCCAGCAGATATTTTTGGCTGAGATGAATTACTTCTTGA
ACCTCGCTGAAGGACTTGGTCTGTGGACGATATTGACCACTTGGGAAATCGTCGGATTTCGTGC
30 CGTTGGTGAATTGCTTGCTAACCAGTACGTCTTGGCTTGTCTCGTATGGAGCGAAACGTTCCG
GAGCGCATGAGTGTGCAAGATAATGAAGTGTGACACCGCAACAAATCATTAACATCCGCCCAG
TCACAGCAGCTATCAAAGAATTCTTTGGTTTCATCTCAATTGTCTCAATTTATGGACCAACATAA
TCCACTGTCTGAATTGTCTCACAACGCCGTTTGTGACCCCTGGGACCTGGTGGTTTGACTCGT
GATCGTCTGGATATGAAGTGCCTGACGTGACTATACCCACTATGGTTCGTATGTGTCCGATTG
35 AAACGCCCTGAAGGACCAAACATCGGTTTGTGATCAATAACTTGTCTTCTTATGGACACTGAATAA
ATATGGCTTTATCCAAACGCCGATCGTAAAGTGGATCGTGAAACAGGTCTGGTCACCAATGAA
ATCGTTTGGCTGACAGCGGACGAAGAAGATGAATTTATCGTAGCGCAAGCAAATCTAAATTAA
CAGAAGATGGTCTGTTTTGCAGAAGCGATTGTCATGGGACGTCACCAAGGGAACAACCAAGAATT
TCCTTCAGATCAAGTAGACTTTCATGGATGTATCGCCTAAGCAGGTAGTTGCGGTTGCGACAGCA
40 TGTATTCTCTTCTTGAACGACGACTCAAAACCGTGCTCTCATGGGTGCCAACATGCAACGTC
AGGCGGTACCGTTGATTGATCCGCATGCACCATATGTTGGTACTGGTATGGAATACCAAGCAGC
TCATGACTCTGGTGCGGCGATTATTGCCCAACACGACGGTAAAGTTGTATATTCTGATGCAGCC
AAAGTTGAAGTTCGTCTGTAAGATGGCTCACTTGATGTCTATCATATTACGAAATTCGCCCGTT
CAAACCTCTGGTACTTCTTACAACCAACGTACGTTGGTAAAGTTGGCGATACAGTTGAAAAAGG
45 TGACTTTATCGCAGACGGACCTTCTATGGAAAAAGGTGAAATGGCACCTTGGACAAAATCCAATC
GTTGCTTATATGACATGGGAAGGTTACAACCTTTGAAGATGCCGTTATCATGAGTGAGCGTTTAG
TGAAAGACGATGTTTACACATCTGTTCACTTGGAGGAATTTGAATCAGAAACACGTGATACAAA STRF
GCTTGGACCTGAAGAAATCACGCGCGAAATTCCAAACGTCCGTTGAAGATGCTTTGAGAGACCTT
GACGAAACGGGAATTATCCGCATTGGTGTGAGGTAAAGAAAGGCGACATTCTTGTCCGTTAAAG
50 TAACACCGAAAGGTGAAAAAGACTTATCTGCTGAAGAACGCCTGCTTCATGCAATTTTCGGTGA
TAAATCTCGTGAAGTACGTGATATCTCCCTTCGTGTACCATGTTGGTGTCAACATGTTGGTAC
GATGTGAAAAATCTTTACTCGTGCGAACGGTGATGAATGCAATCTGGTGTCAACATGTTGGTAC
GTGTTTACATCGCTCAAAAACGGAAATCCGTGTTGGGGATAAGATGGCTGGACGTCACGGAAA
CAAAGGGGTTGTTTCCCGCATTTGTTCCAGTTGAGGATATGCCGTATCTTCCAGATGGAACACCA

GTTGATATTATGTTGAACCCACTTGGGGTGCCATCTCGTATGAATATTGGTCAAGTTATGGAGC
 TTCACCTCGGTATGGCTGCTCGCAACCTTGGCATTACATTGCAACACCAGTATTTGACGGGGC
 TAGCTCAGATGATCTTTGGGAAACCGTTTCGTGAAGCTGGCATGGATAGCGATGCTAAGACAATC
 CTTTATGATGGCCGTACTGGTGAGCCATTTGATAATCGTGTATCCGTTGGTGTCTATGTACATGA
 5 TCAAACTCCACCATATGGTTGATGATAAGCTCCATGCCCCGTTCCGTTGGTTCCTTATTCAACCGT STRR
 TACGCAACAACCTCTTGGTGGTAAAGCGCAGTTTGGTGGACAACGTTTGGAGAAATGGAAGTT
 TGGGCTCTTGAAGCCTACGGTGCTTCTAACGTCTTCAAGAAATCTTGACTTACAAGTCAGATG
 ACATCAATGGTCGTTTGGAGCTTATGAAGCCATTACCAAAGGTAAGCCAAATCCAAAACCAGG
 TGTTCCAGAATCCTTCCGTGTCCTTGTAAGAATGCAATCACTTGGTCTTGACATGCGTGTC
 10 CTTGATGAAGACGACAATGAAGTCGAACCTTCGTGACTTGGACGAAGGCATGGATGATGATGTGA
 TTCATGTAGACGATCTTGAAAAAGCAGTGA AAAAGCAGCACAAGAAAGCAAAAGCCGCTTTTGA
 TGCTGAAGGGAAAGAATAAGAACTGATTCAATAGATAATAAAGAAAGGTAAGAAATAGTGGTTG
 ATGTAATCGTTTCAAAGTATGCAAATCACCTAGCTTCTCCTAGTAAAGTCCGCTCTTGGTCT
 TTATGGAGAAGTGAAGAAACCTGAAACAATTAACCTACCGCACACTAAAACCAGAACGCGAAGGG
 15 CTTTTTGATGAAGTCATCTTTGGTCCCTACGAAAGACTGGGAATGTGCGTGTGGA AAAATATAAAC
 GGATTCGTTATAAAGGAATCATTGTGACCGTTGTGGTGTGGAAGTAACCTCGTACTAAAGTTCG
 TCGTGAACGTATGGGACATATTGAGTTGAAAGCCCCAGTCTCCTCATATTTGGTATTTTAAAGG
 AATTCCAANTCGCATGGGCTTGACCTTGGACATGAGCCCTCGTGCTCTTGAAGAAGTCATNTAN
 TTTGCAGCTTATGTGGTGANTGACCCTAAAGATACNCCACTTGAGCACAAATCCATTATGACAG
 20 AGCGGGATGGTTNGTGAACGCTGACNTGAATATGGCCAAGGCTCTTTTGTGCAAAAATGGGTG
 YTGAAGCAATCCAAGATCTNNTGAAACANGTAGACCTGGAAAAAGAAATTGCAGAGCTCAAAGA
 TGAATTA AAAACGCAAGTGGGCAAAAGCGCTAAAMGCTAANTTCGTGNTNNGACTCTTTTC
 GATNCTTTCAA AAAATCATGGTACACAAAACCAGAACTGGATGGTCTTAAACCATCNTTTCACC
 25 GCTCATTCCAGACAC -3'

SEQ ID N°2 : Séquence du gène *rpoB* de *Streptococcus equinus*. Cette
 séquence mesure 4 118 paires de bases et possède un contenu en cytosine
 plus guanosine de 41 % est déposée dans GenBank sous le numéro GenBank
 accession AF 535187:

30 5' -CACGCGTGGTCGACGGCCCGGGCTGGTGAATTGTCATAAGTTGTGTAGTAGTAAATTCCTTAT
 CAGTGTGATGCATGAGCTATAAATAGTGTACTCATATTTGCCACTTTTCATCGACATAGCAAAG
 TCCTTTTTTGTGTTTCAACGGATTTTAAATGTGGAAGAATTGATTAACACTGCTTTCTCTGTT
 TCTTCAGCCACAGAATTTAATTTGTAAAAGTAACCTTTACATAACGTGACATTGATGATAAAT
 35 CACCAGGCAAGCCAAGTCCACCCATGCCACGGCTATAAGTTTCAAGTTCTAACTCTTTAGCAAA
 ACGATTTTCTGAAACCTTTGGAGATAGATGACGATAGTTATTCAAATTGAATAATTGTTTATCA
 AAAGTTGGATTATTAGTCAAAACACCTGTGTGAGTTATTCGTAAACTTATAGGGCACGCGTGGTC
 GACGGCCCGGGCTGGTAAAGACTTCTTGGATAACGGATTAAMAGAAGTTTTTGAAGATGTACTT
 CCGATTACAACTTTACGGATACTATGGAGCTTGAATTTGTGTTACGAATTGAAAGAGCCTA
 40 AGTATACGCTTGAAGAAGCTCGTATCCACGATGCATCTTATTCAGCACCTATTTTGTAACTTT
 CCGTTTGATTAATAAAGAAACAGGAGAAATCAAACTCAAGAAGTTTTCTTCGGTGATTTCCCA
 ATTATGACTGAAATGGGTACATTTCATCATCAACGGTGGTGAACGTATTATCGTTTCTCAGTTGG
 TTCGTTCTCCTGGTGTATTATTTCAACGATAAAGTTGATAAAAACGGTAAAGTTGGTTACGGTTC
 AACTGTAATCCCTAACCGTGGAGCATGGCTTGAATTAGAAAACAGATTCAAAGATATTGCTTAC
 45 ACACGTATCGACCGTACACGTAAAATTCATTTACAACCTCTGTACGTGCGCTTGGTTTCTCAG
 GTGATGATGAAATCATGGATATCTTTGGTGATAGCGAACTTGTTCGTAACACAATCGAAAAAGA
 TATTCAAAAAACCCAGCAGACTCACGTACTGACGAAGCTCTTAAAGAAATTTACGAACGCCTT
 CGTCCAGGTGAACCAAAAACAGCTGATAGCTCACGTAGCTTGCTTGTAGCTCGTTTCTTGACC
 CACGTCTTTATGACTTGGCAGCTGTTGGTCGTTACAAAATCAACAAAAAACTTAACATCAAGAC
 TCGTCTTTTGAACCAAAACAATCGCTGAAAACCTTGGTTGATGCTGAAACTGGTGAAATCCTTGT
 50 GAAGCTGGTACAGTAATGACACGTGACGTGATTGATTCAATCGCTGATCAATTGGATGGTGACC
 TTAACAAATTTGTTTACACACCAATGATTACGCTGTTGTCACTGAACCTGTTGTTCTTCAAAA
 ATTCAAAGTTGTTGCACCAACGATCCAGACCGCTGTTGTACAATCGTTGGTAACGCAATCCT
 GATGACAAAAGCGCGTGCCTTACACAGCTGATATCTTGGCAGAAATGTCTTACTTCCCTTAACC
 55 TTGCTGAAGGTCTAGGTAAAGTTGATGATATCGACCACCTTGGGAATCGTCGTATTCGTGCGGT
 TGGTGAATTGCTTGCTAACCAATTCGTTATGGTCTTGGTCTGATGGAACGTAACGTTCCGGGAA
 CGTATGTCAGTTCAAGACAACGAAGTTGACACCACAACAAATCATCAACATTCGTCTCTGTTA

CTGCAGCCGTTAAAGAATTCTTCGGTTCATCTCAATTGTCAAGTTCATGGACCAACACAACCC
 ACTTTCTGAGTTGTCTCACAAACGTCGTTTGTGACGCTTAGGACCTGGTGGTTTGGACTCGTGAC
 CGTGCTGGTTATGAAGTTCGTGACGTGCACTACACTCACTATGGTCGTATGTGTCCGATTGAAA
 CTCCTGAAGGACCTAACATCGGTTTGGATCAATAACTTGTCAACATACGGACACCTTAATAAATA
 5 TGGTTTTCATCCAAACACCATATCGTAAAGTTGACCGCGCTACAGGTGTGATTACAAACGAAATC
 GTTTGGTTGACTGCCGATGAAGAAGATGAATACACAGTAGCACAGGCTAACTCAAACTTAACG
 AAGATGGAACATTTGCTGAAGACATCGTTATGGGACGTCACCAAGGTAATAACCAAGAGTTCCC
 AGCAAGCGTTGTTGACTTCGTAGACGTTTCACCTAAACAAGTAGTTGCCGTTGCGACAGCATGT
 ATTCCTTTTCCTTGAAAACGATGACTCTAACCGTGCCCTTATGGGTGCCAATGCAACGTCAG
 10 CGGTGCCATTGATTGATCCACACGCACCATATGTTGGTACTGGTATGGAATATCAAGCAGCCCA
 CGACTCAGGTGCTGCAGTTATCGCTAAACACGATGGACGCGTTATCTTCTCTGATGCTGAAAA
 GTTGAAGTTCGTGCGGAAGATGGTTCACTTGATGTTTACCACATTACTAAATTCGTCGTTCTA
 ACTCAGGTACAGCTTATAACCAACATACACTTGTTAAAGTTGGCGATATCGTTGAAAAAGGTGA
 CTTCATCGCTGATGGTCCCTCAATGGAAGATGCCATCATCTTGAGTGAACGTCCTTGTTA
 15 AAGAAGATGTTTATACATCAGTTCACCTTGAAGAATTTGAATCAGAAACACGTGATACTAAGTT STRF
 AGGCCCCGAAGAAATCACTCGCGAAATTCAAACGTTGGTGAAGAAGCTCTTAAAGACCTTGAC
 GAAATGGGTATTATCCGTATCGGTGCTGAAGTTAAAGAAGGTGACATCCTTGTTAGGTAAAGTAA
 CACCTAAAGGTGAAAAAGACCTTTCTGCTGAAGAGCGCCTTCTTCACGCAATCTTCGTTGATAA
 20 ATCAGTGAAGTTCGTGATACATCACTTCGTGTACCACACGGTGGAGATGGTGTCTGTTGAC
 GTTAAAAATCTTTACACGTGCAACGGTGATGAATTACAATCAGGTGTTAACATGCTCGTTCGTG
 TTTATATCGCACAAAAACGTAAATCAAAGTCGGAGATAAAATGGCCGGTCTGTCACGGTAACAA
 AGGGGTTGTTTCTCGTGTGTTCCAGTTGAAGACATGCCTTATCTTCCAGACGGAACTCCAGTC
 GATATCATGTTGAACCCACTTGGGGTGCCATCTCGTATGAACATCGGACAAGTTATGGAGCTTC
 25 ACCTTGGTATGGCTGCTCGTAACCTTGGTATTACATTGCAACACCAGTCTTTGATGGGGCAAC
 TTCTGAAGACCTTTGGGATACAGTTAACGAAGCTGGTATGGCTAGCGACGCTAAGACAGTTCTT
 TACGATGGACGTACTGGTGAACCATTTTGATAACCGTGTGTGAGTTGGTGTGATGATGATTA
 AACTTCACCACATGGTTGATGATAAACTTCACGCACGTTTCAAGTTGGTCTTACTCACTTGTAC STRR
 30 GCAACAACCTCTTGGTGGTAAAGCACAAATTTGGTGGACAACGTTTTCGGTGAATGGAAGTTTGG
 GCTTTGGAAGCTTACGGTGCATCAATGTTCTTCAAGAAATCTTGACTTACAAATCAGATGATG
 TCAACGGTCTGTTTAAAGCTTATGAAGCCATCACTAAAGGTAAACCAATTCCAAACCAGGTGT
 TCCAGAATCATTCCGAGTTCTTGTAAAGAATGCAATCACTTGGTCTTGACATGCGCGTGCTT
 GATGAAGATGACAATGAAGTAGAAGTTTCGTGATCTTGATGAAGGTGAAGATGACGATGTTATGC
 35 ACGTTGATGATCTTGAAGAAAGCTCGTCAAAAAACAAGAAGCAGAAGAAGCGGAAAAAGCAGAAGT
 TTCTGCAGAAGAAACAAATAATAGGAAAGAACATTCAGACATGAGAGAGGCAAGACCTGCTTC
 TCTTGGTCAGATTGTTTGGATTGAGTCCTATAACGATAAATGATGTCTTACGAATCATGAATTTG
 TAAGTCATGACAGTTAGAAAGTAGCGCAGCTATTTCAAAGTCATAAGAAGGTATCATGGTGACG
 TAATCGTTACAGCCGGCGTC -3'

40 SEQ ID N°3 : Séquence du gène *rpoB* d'*Abiotrophia defectiva*. Cette séquence
 mesure 4 325 paires de bases, possède un contenu en cytosine plus guanosine
 de 47 %, et est déposée dans GenBank sous le numéro AF 535173 :

5' -ATATAGGGCACGCGTGGTTCGACGGCCCGGGCTGGTCTTAAACAACATGTAACGTCCTCCGATG
 AGTTGGTTCTGTTGTCTTTTTCGCGCTTCAAAGACCGAAAAATGTCATTTGTCAACAATTAT
 45 TAATAATTGTAACCTTAATGTAAAGTGGTGTCTTAGATTATATTATAGGGGTGAATCGCTTGA
 GTCATATCGTGAAATACGGTAAAAAGCTGAGCGTCGAAGCTATGCGCGTATCGACGAAGTCTT
 AGAGTTGCCGAACCTTGATTGAAATCCAAACGGATTCCACAAATGGTTCTTGGATGAAGGGCTA
 AAAGTGATGTTTCGAGGACATTTTCGCCGATTTGTCGACCATTCGGAGAACTTGAACCTTCAATTTG
 TAGACTATGAGTTCAAGGAAGCTAAGTATAGCTTAGAAGAAGCTCGTAGCCATGACGCTAACTA
 50 CTCAAAACCAATCTATGTAACCTTGCAGCTGTTCAACAAAGAGACAGGTGAAGTCAAAGAACAA
 GAAGTCTTCTTCGGGGACTTCCCAATCATGACCGAAATGGGGACCTTCATTATCAACGGGGCGG
 AACGGGTTATCGTTTCCAGTTGGTACGTTCTCCAGGTGTCTACTTCCACGACCGTATGGGCA
 GAAAGCGCGCCACAGCTATACTTCTACGGTATTCTTAACCGTGGGGCTTGGTTGGAATTTGAA
 TCAGATGCTAAGGGGATTGCCCTACGTCGCGATTGACCGGACCGGAAGATTCCATTGACTGTCT
 55 TGATGCGTGCCTTAGGTTTTGGTTTCAGATGACGAGATTTATGATATCTTCCGCCAATCTGAGCT
 CTTAGACTTAACTATCGAGAAGGATGTTTCAAAAAACATTCAAGACTCTCGTACGGAAGAAGCC
 TTGAAGGACATTTACGAGCGTCTCCGTCCAGGTGAACCTAAGACCGCAGAAAGCTCACGTAACC

TCTTGGTTGCGCGCTTCTTCGACCCACGTCGCTATGACTTAGCACCTGTAGGTCGTTATAAGAT
 CAATAAAAAGCTCCACCTCAAGAACCGTTTGGTTGGCTTGACTTTGGCTGAAACCTTGGTTAAC
 CCAGAAACAGGCGAAGTGCTCTTTGAAGAAGGAACGGTCTTGGATCAAGAACGTGTTCAAGCCC
 TGATTCCATACTTAGAGGCTGGCTTGAATAAGGTAACCCCTCTATCCTTCTGAAGATAGTGTGGT
 5 AACATCATCGGTAACGGGAACATTGAGAAGATTAAAGTGCTTGACGCCAGCTGACATTATTGCGT
 CAATGAACTACTATCTCTATTTAGACCAAGGAATTGGTGTGACAGATGATATCGACCACTTGGC
 TAACCGTCGTATTCTGTCAGTCGGTGAATTATTGCAAAACCAATTCCGTATCGGGCTATCCCGG
 ATGGAACGGGTAGTGCGTGAACGTATGTCGCTCCAAGATGTTGCGACCATCACACCGCAACAAT
 10 TGATTAACATTCGTCCAGTAGTGGCGGCTATTAAGGAATTCTTCGGTTCATCCAGTTGTCACA
 ATTCATGGACCAAGTTAAACCCACTCGGGGAAATTGACCCACAAACGTCGTCTGTCAGCCCTTAGGG
 CCTGGTGGTTTGACGCGGGACCGTGCCGGCTATGAAGTGCGGGACGTTCACTACTCTCACTACG
 GCCGTATGTGTCCAATCGAGACGCCAGAAGGTCTAACATCGGGTTGATTAACAGCTTGTCTTC
 TTATGCCAAGATTAACAAGTATGGTTTTATTGAGACGCCTTACCGTAAAGTGAGCAAAATCGGTT
 15 ACGCCACACCGTGTACGACCGAAATTGACTACCTAGCAGCGGACGAGGAAGACTTGTACGTAG
 TAGCCCAAGCCAACCTCTAAACTCAACGAAGACGGGACCTTCGCCAATGACCTAGTTATGGCGCG
 TTTCCGTTACAAAACATTGAGGTTAACGTTGACCAAGTAGACTACATGGACGTATCGCCAAAA
 CAGGTTGTGCTGTGCGGACTGCTAGCATTCGGTTCTTGGAAAACGACGACTCCAACCGGGCT
 TGATGGGTGCCAATATGCAACGTCAAGCTGTGCCACTTATTAATCCACAATCCCCACTGATTGG
 20 GACTGGGATGGAATATAAGGCAGCACACGACTCTGGGGCTGCGCTCTTATGTAAGCGCGCCGGT
 GAAGTGGTTTATGTGCTGCTAACAAAGGTGCGCGTGCCTCCAGAAAGTGAAGTTGACGAAT
 ACCGTTTAAACCAAGTTTGCACGTTCTAACGCTGGGACCTGTTACAACCAACGTCCAATCGTAGA
 ATTAGGCGACCAAGTTGATGCCTTGGAAATCTTAGCAGATGGTCCATCTATGCAAAATGGGGAG
 ATGGCCCTCGGTCAAAAACCACTGGTACGCTTACGACTTGGGAAGGGTATAACTATGAGGACG
 25 CGGTTATCATGTCTGAACGTCTGGTCAAAAGACGATGTTTATACCTCTATCCACATTGAAGAATA
 TGAATCAGAGTCCCGTGAYACYAAGTTAGGCCCTGAAGAAATTACACGCGAAATTCCAACCGTG
 TCCGAAGATGCCCTCAAGTACTTAGACAAAGACGGGATTATCTGTATCGGGGCGGAAGTAAAG
 ACGGCGATATCTTAGTTGGTAAGGTAACACCAAAAGGTGTGACCGAGTTGTCTGCGGAAGAACG
 CTGCTCCATGCTATCTTCGGTGAGAAGGCGCGTGAAGTACGTGATACTTCTTGGCTGTGCCA
 30 CACGGCGGGGCGGGATTGTCCACGACGTTAAATCTTTACCCGCGAAGCTGGCGACGAATTGG
 CACAGGTGTCAACAAGCTAGTCCGCGTCTACATCGTACAAAACGTAAAATCAATGAAGGGGA
 TAAGATGGCCGGTCTGTCACGGTAACAAAGGGTTGTCTCCCTTATCATGCCGGAAGAAGATATG
 CCATTCTTACCAGATGGTACCCAGTTGATATCATGTTGAACCCATTAGGGGTTCCATCCCGTA
 TGAACATCGGGCAAGTCTAGAGTTACACTTGGGGATGGCTGCTCGCGAAATGGGCATGAAAG
 35 TGCAACACCTGTCTTTGACGGTGCTAGTGAAGAAGATGTCTGGGAAACAGTTAAGGAAGCCGGC
 TTAGAAGCTGACGCTAAGACTATCTTATATGATGGTCAACCGGTGAACCATTTGACCGTAAAG
 TCTCTGTTGGGGTTATGTACATGATTAAAGTTGGCCACATGGTTCGATGACAAGTTGCACGCCCC
 TTCAACAGGTCCATACTCTCTGGTTACCCAACAACCAATTGGGTGGTAAAGCTCAATTTGGTGGG
 CAACGTTTCGGGGAGATGGAGGTTTGGGCCCTA -3'

SEQ ID N°4 : Séquence partielle du gène *rpoB* de *Streptococcus mutans*. Cette
 séquence mesure 3198 paires de bases, elle possède un contenu en cytosine
 plus guanosine de 42 %, et est déposée dans GenBank sous le numéro AF
 535167.

45 5' -GGACCCTTTTATGACTTCTTGGATACAGGTCTGAAGGAAGTTTTTGAAGATGTGCTTCCAATTT
 CCAATTTACAGACACTATGGAATTAGAGTTTGTGGGTTATGAGTTGAAAGAGCCTAAGTATAC
 ATTGGAAGAAGCACGTGCTCATGATGCACATTATTCTGCCCCATCTTTGTTACTTTCCGTCTC
 ATCAATAAAGAACTGGTGAATTAAGACACAAGAAGTATTTTTTGGTGATTTTCCCTTGATGA
 CTGAAATGGGTACTTTTATTATTAATGGTGTGTAACGTATTATCGTTTCTCAGTTGGTACGTTT
 50 ACCAGGTGTTTATTTAATGATAAAGTGGATAAAAATGGGAAAATTGGCTATGGTTCAACTGTT
 ATCCCTAACCGCGGTGCTTGGCTTGAGCTTGAACGGACTCTAAGGATATTGCTTATACCTCGTA
 TTGATCGTACTCGTAAAATTCCTTTACGACGCTGGTTTCGTGCACTCCGTTTTCGGGGATGA
 TGAGATTATTGATAATTTTGGTGATAGCGAATTGGTTTCGTAATACCATGAAAAAGATATCCAT
 AAAAATCCTAATGACTCTCGTACAGATGAAGCTCTCAAGGAANTTATGAACGCTCTTCGTCCGGG
 55 TGAACCTAAAACGGCAGATTCTACGACGCTCTCTGATTGACGCTTCTTTGATGCGCGCCGT
 TATGATTAGCAGCTGTTGGCCGCTATAGATAATAAGAAGTTAAACGTCAAAACGGGCTTTTGAA

TCAAGTCATTGGCTGAAAANNAGTAGATCTGAAACAGGCGAAATTCCTTGGTTGAAAAGCTGGGACT
 GAAATGACACGCAGTGTAATTGATTTCGATTGCAGATTATCTTGATGGAGATCTCAATAAAATTTG
 TTTATACGCCAAATGAATACGCTGTTTTGACAGAACCTGTTGTTCTTCAAAAATTCAAAGTTAT
 GGCTCCAAATGATCCAGACCGCACGGTTACTGTTATTGGTAATGCCAGTCCAAGATGACAAAGT
 5 ACGTCACCTTGACACCGATACGTATTAGCTGAAATGTCTTATTTTCCTTAACCTGGCTGAGG
 GTNTAGGTAAAGTTGATGATTTGACCAATTTAGGCAACCGACGTATTTCGTGCTGTTGGTGAATT
 GCTTGCTAATCAATTTTCGTATTGGTTTGGCACGTATGGAACGCAATGTTTCGTGAACGCATGTCC
 GTTCAAGATAATGAAGTCTTAACGCCACAACAGATTATTAACATTGCCCCGTGAACAGCGGCAA
 TTAAGAGTTTTTTGGTTCTTCTCAATTGTCTACAGTTTATGGACCAACACAATCCACTGTCTGA
 10 ATTTGTCTCATAAACGCCGTTTGTCTAGCTTTAGGTCCTGGTGGTTTAACACGCGACCGTGTCTGGT
 TATGAAGTCCGTGATGTGCACTATACGCAATTATGGTCGTATGTGTCCAATTGAAACGCCTGAAG
 GACCAATATTGGATTGATTAATAACTTGTCTTCTTATGGTCATCTTAATAAATATGGATTTAT
 CCAACACCATACCGTAAAGTTGACCGTGAGACAGGTAAAGTAACCAATGAAATCGAATGGCTT
 ACTGCTGATGAAGAAGATGAATTCAGTGTAGCTCAGGCTAACTCAAACTCAATGAAGATGGAA STRF
 15 GCTTTGCTGAAGAAATCGTCATGGGACGTATCAAGGGAATAACCAAGAGTTTCAGCAAGTTT
 TGTTGAATATATGGATGTTTCTCCTAAGCAGGTAGTTGCGGTAGCGACAGCATGTATTCCTTTC
 CTTGAAAATGATGACTCCAACCGTGCCCTTATGGGAGCTAACATGCAGCGCCAAGCTGTGCCAT
 TGATTGATCCTAAAGCACCTTTTGTGGAACCTGGTATGGAATATCAAGCAGCCCAGTATTCTGG
 AGCCGCTATTATCGCTCAACATAATGGGAAAAGTGGTTTTATTCGATGCAGATAAGATTGAAGTT
 20 CGCCGTGAAGATGGCTCACTAGATGTTTATCATGTTACCAAATTCGTCGTTCTAACTCTGGAA
 CTGCCCTACAATCAACGTACTCTTGTAGGGTAGGCGATAGTGTGAGAAGGGGGACTTTATTGC
 AGATGGTCCTTCTATGGAAGGGGTGAGATGGCTCTTGGACAAAATCCAGTGGTTGCTTACATG
 ACTTGGGAGGGTTACAACCTTTGAAGATGCTGTTATCATGAGCGAGCGCTCTTGTCAAGGATGATG
 TTTATACTTCTGTCCATTTAGAAGAATTTGAATCTGAACTCGTGATACAAAGCTTGGACCTGA
 25 AGAAATTACGCGTGAAATCCCAAATGTTGGTGAAGATGCCCTGAAAGACCTTGATGAAATGGGA
 ATTATTCGCATTGGTGTCTGAGGTAAAGAAGGTGATATTCTAGTTGGTAAAGTGACTCCTAAAG
 GAGAAAAAGATCTTTCTGCAGAAGAAGCCCTCTTGCATGCCATTTTGGTGACAAATCACGTGA
 AGTTCGTGATACTTCTCTTCTGCTGACCTCATGGTGGCGACGGTGTGTTGTTGTGATGTGAAATC
 TTTACACGTGCTAATGGAGATGAACCTCAATCAGGTGTTAACATGCTGGTTCGTGTTTATATCG
 30 CTCAAAAACGTAAATCAAGGTGCGAGATAAGATGGCCGGACGTATGGTAACAAGGGTGTCTGT
 TTCCCGTATTGTGACAGTGGAAGATATGCCATATCTTCCAGATGGAACACCTGTTGATATCATG
 CTTAATCCACTTGGGGTGCCATCACGGATGAACATGGGCAAGTTATGGAACCTCATCTTGGTA
 TGGCTGCTCGTAATTTGGGCATTCATATTGCAACGCCCTGTCTTTGACGGAGCAACTCTGTATGA
 TCTTTGGGAAACAGTAAAGAAGCCGGTATGGATTCTGATGCTAAAACTGTTCTTTATGATGCTGT
 35 CGCACAGGGGAGCCGTTTGATAATCGTGTATCAGTTGGTGTATGTATATGATTAACTTCACC STRR
 ACATGGTTGATGAYAACCATTTTGTCTATGCAMAGWTCAGTTGGCCCTTAKTCAAYGAWTAMTC
 AGASGARTTCTGTGCTWGGTGTAAAGGCTNCAATTGTCTTTAGAGGTTAAGGCTGGTGAAATAAC
 GGTATGCTGGTATTGATGGCAATGGGCAAGTGAATANTCAACACCGGCCGCTTACANCGTGC-3'

40 SEQ ID N°5 : Séquence partielle du gène *rpoB* d'*Enterococcus faecalis*. Cette
 séquence mesure 3096 paires de bases, elle possède un contenu en cytosine
 plus guanosine de 42 %, et est déposée dans GenBank sous le numéro AF
 535175

5' -GACCCCTTATCAATTGGTTTTTTAGATGAGGGACTTCGTGAAATGTTTGAAGACATTTTACCAATT
 45 GATGATTTCCAAGGAACTTATCCTTAGAATTTGTTGACTATGAATTAAGAAGCAAGTACAC
 CAGTAGAAGAAGCCCGCGCACATGATGCCAATTTCTGCGCCATTACATGTAACATTACGTTT
 AACCAACCGTGAAACAGGTGAAATTAATCCCAAGAAGTCTTCTTCCGCGATTTCCTTAAATG
 ACAGAAATGGGTACCTTCATCATCAACGGGGCAGAACGTGTTATCGTTTCCCAATTTAGTTCGTT
 50 CTCCAGGTGTTTACTTCCATGGAAAAGTGGACAAAAACGGCAAAGAAGGTTTTGGCTCAACAGT
 CATTCCTAACCGTGGTGCATGGTTAGAAATGGAAACAGATGCGAAAGACATTTCTTATGTTCCG
 ATTGACCGCACACGTAAAATTCCTTTAACTGTGTTAGTTTCGTGCTTTAGGTTTCGGTTCAGATG
 ATACCATCTTCGAAATTTTCGGCGACAGCGAAAGCTTACGCAACACAATTGAAAAAGATTTACA
 CAAAAACGCAAGTGATTCTCGTACAGAAGAAGGCTTGAAGACATTTATGAACGTCTTCGCCCCA
 55 GGCGAACCAAAAAACAGCAGATAGCTCACGTAGCTTGTAACTTGCACGTTTCTTTGATCCAAAA
 CGTTATGATTTGGCAAACGTGGTTCGCTACAAAAGTTAAACAAAAATTAGACTTAAAAACACGTC
 TATTAACTTAACCTTAGCTGAAACGCTAGTTGATCCAGAACTGGTGTAATCATTTGTGCAAA

AAGGCACAGTTTTAACACACTACATCATGGAAACATTAAGGCRATACATTGACAAACGGCTTAA
 ACAGCGTAACTTACTATCCAAGTGAAGATGCGGTAGTAACTGAACCAATGACGATCCAAGTGAT
 TCAAGTTCTTTACCAAAAAGATCCTGAACGTATCGTAAATGTGATTGGTAACGGCTATCCAGAC
 GACAGCGTAAAAACAGTTCGTCCAGCAGATATCGTTGCTTCAATGAGCTACTTCTTCAACTTAA
 5 TGGAAGATATCGGTAATGTCGATGACATCGACCACCTAGGTAATCGTCGTATCCGTTTCAGTAGG
 CGAATTATTACAAAACCAATTCCGTATTGGTTTAGCCCGTATGGAACGTGTGGTTTCGTGAAAAGA
 ATGTCTATTCAAGACACAGAAACATTTGACACCACAACAATTAATTAACATCCGTCAGTGGTAG
 CAAGTATCAAAGAATTCTTTGGTTCTTCACAGTTATCACAGTTCATGGACCAACAAACCCATT
 AGGTGAGTTAACCATAAACGTCGTCTATCAGCCTTAGGGCCTGGTGGTTTGACTCGTGATCGT
 10 GCCGGTTATGAAGTTCGTGACGTTCACTACTCTCACTATGGTCGTATGTGTCCAATTGAAACGC
 CTGAGGGACCAATATCGGGTTGATCAATAGCTTATCTAGTTATGCGAAAGTGAATAAATTTGG
 TTTTCATCGAAACGCCTTATCGCCGTGTTGATCGTGCGACAGGCCGTGTTACTGATCAAGTAGAT
 TACTTAAACAGCAGACATCGAAGACCATTATATCGTAGCGCAAGCGAACTCACTTTTAAATGAAG
 ATGGCACATTTGCCAATGATGTTGTTATGGCGCGTCTACAAAGTGAAAACCTTAGAAGTTGCCGT
 15 AGACAAAGTTGACTACATGGACGTTTCACCAAAACAAGTAGTCGCAGTCGCAACAGCATGTATT
 CCTTTCTTAGAAAACGATGACTCCAACCGTGCCCTTGATGGGTGCCAACATGCAGCGTCAAGCGG
 TGCCGTTAATTCAACCACGCTCTCCGTGGGTAGGTACAGGTATGGAATATAAATCAGCCCATGA
 CTCAGGTGCTGCTTTACTATGTAAACATGACGGTGTCTGATGAATTCGTGATGCAAAAGAAATT STRF
 CGCGTTTCGTGCGGACAATGGCGCATTAGACAAATATATGGTTACAAAATTCGTCGTTCTAACT
 20 CAGGAACAAGCTACAACCAACGCCCCAATTGTTTCACTTAGGTGAAAAGTTGAAAAGGCGATACTT
 TACCGGATGGACCTTCTATGGAAGAAGCGAAATGGCTTTATGGCAAAACGTCTTAGTTGCCTTC
 ATGACATGGGAAGGTTACAACCTACGAGGATGCCATTATCATGAGCCGTCGTTTAGTTAAAGACG
 ATGTCTACACTTCTGTGCATATTGAAGAATATGAATCAGAAGCACGTGATACAAAATTAGGACC
 TGAAGAAATTACCCGTGAAATTCCAAACGTTGGGGAAGACGCGTTGAAAGACTTAGACGAAATG
 25 GGGATTATCCGCATTGGTGCTGAAGTTCAAGATGGCGACTTACTAGTTGGGAAAGTCACACCTA
 AAGGGGTACAGAATTATCTGCAGAAGAACGTTTATTACACGCAATCTTCGGGGAAAAAGCCCG
 CGAAGTTTCGTGATACGTCTCTCCGTGTACCTCACGGTGGCGGGCGGTATCGTTCATGATGTGAAA
 ATCTTTACTCGTGAAGCTGGCGATGAATTATCACCAGGTGTCAACATGTTAGTTCTGTCTATA
 TCGTTCAAAAACGTAAAATTCACGAAGGAGATAAAATGGCGGGACGTCACGGAAATAAAGGGGT
 30 TGTTCCTCCGTATTATGCCGGAAGAAGATATGCCATTCTTACCTGACGGAACACCTGTTGATATC
 ATGTTGAACCCATTAGGGGTACCTTCTCGTATGAATATCGGACAAGTACTTGAATTACACTTAG
 GTATGGCTGCTCGCCAATTAGGTATTCACGTCGCAACACCTGTTTTCGATGGGGCAACCGATGA
 AGACGTTTGGGAAACTGTTTCGTGAAGCTGGTATGGCTAGCGATGCTAAAACAGTTCTTTACGAT
 GGACGTACAGGTGAACCATTGATAACCGTATTTCCGTTGGTGTCATGTATATGATTAATTAG
 35 CCCACATGGTTGATGACAAATTGCATGCTCGTTCAATCGGACCTTACTCTCTTGTACGCAACA STRR
 ACCGTTGGGTGTAAAGCTCAATTC-3'

Dans les séquences qui précèdent, le nucléotide K désigne T ou G, le
 nucléotide M désigne A ou C, le nucléotide R désigne A ou G, le nucléotide W
 40 désigne A ou T, le nucléotide Y désigne C ou T et le nucléotide N désigne A, T,
 C ou G.

Exemple 2 : Séquençage partiel du gène *rpoB* de 28 espèces du genre
Streptococcus et genres apparentés.

A partir de l'alignement des séquences complètes du gènes *rpoB* chez
 45 *Streptococcus* spp. et *Abiotrophia defectiva* de l'exemple 1 et celles connues
 dans GenBank, (*Streptococcus pneumonia* AE008542 et *Streptococcus*
pyogenes AE006480) un jeu d'amorces a été choisi pour l'amplification et le
 séquençage d'un fragment 709 à 740 pb de ce gène chez 28 souches type de
 ces genres bactériennes. Ces amorces ont pour séquence :

- SEQ ID N°6: 5'-AARYTIGMCCTGAAGAAAT-3'

- SEQ ID N°7: 5'-TGIARTTTTRTCATCAACCATGTG-3'

La séquence SEQ ID n° 7 est utilisée à titre d'amorce 3' et représente donc la séquence inverse complémentaire du brin direct représenté dans les
5 séquences SEQ ID n° 1 à 5 qui précèdent.

Ces amorces sont incorporées avec l'ADN extrait des bactéries dans une PCR selon les conditions suivantes : dénaturation à 95°C pendant 1 min suivie de 35 cycles comportant une étape de dénaturation à 94°C pendant 10 sec, une étape d'hybridation à 52°C pendant 10 sec et une étape d'élongation à 72°C
10 pendant 30 sec.

Les produits amplifiés sont séquencés par les mêmes amorces SEQ ID N°6 et SEQ ID N°7 selon les conditions suivantes : dénaturation à 95°C pendant 1 min suivie de 30 cycles comportant une étape de dénaturation à 95°C pendant 30 sec, une étape d'hybridation à 52°C pendant 30 sec et une étape
15 d'hybridation à 62°C pendant 1 min. Les produits de séquençage sont analysés par un séquenceur ABI PRISM 3100.

Les inventeurs ont déterminé la position de ces deux amorces SEQ.ID. n° 6 et SEQ.ID. n° 7, de façon à respecter les critères suivants :

- 1- séquence encadrée par ces deux amorces spécifiques de l'espèce de la
20 bactérie. Cette condition est vérifiée après alignement des fragments de environ 720 pb avec l'ensemble des séquences des gènes bactériens *rpoB* disponibles dans les banques de données informatiques.
- 2- recherche d'une région d'identification la plus courte possible afin d'augmenter le plus possible la sensibilité de la détection moléculaire
- 25 3- la longueur des amorces de 18 à 22 pb,
- 4- séquence des amorces présentant une température de fusion voisine,
- 5- séquence des amorces ne permettant pas d'auto-hybridation ni de complémentarité.

Les fragments obtenus du gène *rpoB* des bactéries des espèces du genre
30 *Streptococcus* et desdits genres apparentés ont environ 720 (709 A 732) paires de bases et leur séquence est spécifique de chaque espèce de ce genre et permettant donc l'identification moléculaire des bactéries des 28 espèces testées sont :

SEQ.ID. n°8 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus suis* CIP 1032 17^T mesurant 709 paires de bases :

5' - CGCGAAATTCCAAACGTTGGTGAAGATGCCCTTCGCAACTTGGACGAAA
5 TGGGGATTATCCGTATTGGTGCCGAAGTTAAAGAGGGCGACATTCTTGTTGG
TAAAGTCACACCAAAAGGTGAAAAAGATCTTTCTGCTGAAGAGCGTCTCTTGC
ACGCAATCTTCGGTGACAAGTCACGTGAAGTACGTGATACCTCTCTTCGTGTA
CCTCACGGTGCCGATGGTGTCTGTTCTGTATGTGAAAATCTTTACTCGTGCCAA
CGGTGATGAATTGCAATCAGGTGTTAACATGTTGGTTCGTGTTTACATCGCTC
10 AAAAACGTAAAGATCAAGGTCGGAGATAAGATGGCCGGTCGTACGGTAACAA
GGGTGTCGTTTCACGTATTGTACCTGTTGAGGATATGCCATATCTTCCAGATG
GAACACCAGTTGACATCATGTTGAACCCACTCGGGGTGCCATCACGTATGAAC
ATCGGTCAGGTTATGGAACCTCACTTGGGTATGGCGGCTCGCAACTTGGGCA
TCCATATCGCAACACCAGTTTTTCGATGGTGCAAGTTCAGAAGACCTCTGGTCA
15 ACTGTTAAAGAAGCAGGTATGGACTCAGATGCCAAGACCATTCTTTACGATGG
ACGTACAGGTGAACCATTTGACAACCGTGTATCTGTTGGTGTATGTACATGA
TCAAGCTTCACCACATGGTTGATGACA - 3'

SEQ.ID.n°9 : séquence partielle du gène *rpoB* *Streptococcus sanguinis* CIP

20 55.128^T mesurant 725 paires de bases :

5' - TGTCAATCAACCATGTGGTGAGCTTAATCATGTACATGACACCGACAGATA
CACGGTTGTCAAACGGCTCACCGGTACGTCCATCGTAAAGAATAGTCTTGGCA
TCGCTATCCATACCAGCTTCACGGACAGTATCCCAGAGGTCTTCTGAGCTTGC
TCCATCAAAGACCGGTGTCGCAATATGGATGCCCAAGTTACGTGCTGCCATAC
25 CAAGGTGAAGCTCCATAACCTGACCAATGTTTACATACGTGATGGTACCCCGAGT
GGGTTTACGCATGATATCAACTGGTGTTCGGTCTGGCAAATAAGGCATGTCTTC
CACAGGAACGATACGGGATACAACCCCTTGTTCGGTGACGACCAGCCATCT
TATCTCCGACCTTGATCTTACGTTTTTTGAGCGATGTAGACACGAACCAACATAT
TAACGCCAGATTGCAACTCATCACCATTAGCACGGGTAAAGATCTTCACGTCA
30 CGAACCACTCCATCAGCACCGTGCGGCACACGCAGAGAGGTATCACGGACTTC
ACGAGACTTGTCTCCGAAGATAGCGTGCAAGAGGCGCTCTTCAGCAGAAAGA
TCTTTTTTACCCCTTAGGGGTAACTTTACCTACAAGGATATCGCCTTCCTTGACT
TCCGCCCCGATGCGGATAATACCCATTTTCGTCCAAATTGCGTAGGGCATCTTC
CCCTACGTTTGAATTTTCGCGGGTAATTCTTCAGGTCA - 3'

SEQ.ID. n°10 : séquence partielle du gène *rpoB* *Streptococcus salivarius* CIP 102503^T mesurant 728 paires de bases :

5'- TTGTCATCAACCATGTGTGAAGTTTGATCATGTACATGACACCAACTGAT
5 ACACGGTTATCAAATGGTTCACCTGTACGTCCATCGTAAAGGATTGTCTTAGC
ATCACTATCCATACCTGCTTCACGAACAGTATCCAGAGGTTCTTCTGAGCTTGC
CCCGTCAAAGACTGGTGTGCGATGTGGATACCCAAGTTACGAGCAGCCATA
CCAAGGTGAAGTTCCATAACCTGACCGATGTTTCATACGTGATGGCACCCCAAG
AGGGTTCAACATGATATCAACTGGTGTACCGTCTGGAAGGTAAGGCATGTCT
10 TCAACAGGAACAATACGAGAAACAACCCCTTTGTTACCGTGACGACCGGCCAT
CTTATCTCCGACCTTAATCTTACGTTTTTGTAGCGATGTAAACACGAACAAGCAT
GTTAACACCTGATTGCAATTCATCACCGTTTGCACGTGTGAAGATTTTAACATC
ACGAACGACACCATCACCAACCGTGAGGTACACGGAGTGAGGTATCACGTACT
TCACGAGATTTATCACCAAAGATAGCATGGAGAAGACGTTCTTCAGCAGAAA
15 GGTCTTTTTTACCCCTTAGGTGTTACCTTACCAACAAGAATGTCACCTTCTTTAA
CCTCAGCACCGATACGGATAATACCCATTTTCGTCAAGGTCTTTGAGAGCTTCTT
CACCAACGTTTGGCAATTCACGTGTAATTTCTTCAGGTCCA – 3'

SEQ.ID. n°11 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus pyogenes*

20 CIP 56.41^T mesurant 725 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGGTGAAGTTTGATCATATACATGACACCAACGGAT
ACACGGTTGTCAAATGGTTCACCGGTGCGACCATCATAAAGGACCGTCTTAGC
ATCGCTATCCATACCAGCTTCACGAACAGTGTCCCAAAGGTCTTCTGATGAAG
CCCCGTCAAAGACAGGTGTTGCAATGTGAATACCAAGATTACGAGCAGCCATA
25 CCAAGGTGAAGTTCCATAACCTGACCAATATTCATCCGTGATGGCACCCCAAG
AGGGTTCAACATGATGTCAACTGGTGTTCGGTCTGGAAGGTATGGCATGTCT
TCAACTGGTACAATACGTGAAACGACACCCTTGTTTCCGTGACGACCGGCCAT
TTTATCTCCGACCTTGATTTTACGTTTTTGTAGCGATGTAAACACGCACAAGCAT
ATTAACACCTGATTGCAATTCATCGCCGTTAGCGCGTGTAAGATTTTCACATC
30 ACGAACGATACCATCACCAACCGTGAGGGACACGAAGTGAGGTATCACGCACT
TCACGCGATTTATCCCCAAAGATGGCGTGAAGTAAACGTTCTTCAGCAGAAAG
GTCTTTTTTACCTTTAGGTGTGACTTTACCTACTAAGATGTCGCCTTCTTTAAC
CTCAGCACCGATACGGATAATGCCCATTTTCGTCAAGGTCTTTGAGGGCTTCTT
CACCAACATTTGGGATTTCCGAGTGATTCTTCAGGGCA – 3'

SEQ.ID. n°12 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus pneumoniae* CIP 102911^T mesurant 724 paires de bases :

5' – CAACCATGTGGTGGAGTTTGATCATGTACATGACTCCGACAGAAAACACG
5 GTTATCAAACGGTTCACCAGTACGTCCATCGTAAAGGATCGTTTTGGCATCGC
TATCCATACCTGCTTCTTTAACAGTTGACCAAAGATCTTCAGAAGTTGCTCCAT
CAAAGACTGGTGTGCGGATGTGAATACCAAGAGTACGAGCTGCCATACCAAG
GTGAAGCTCCATAACCTGACCGATATTCATACGTGATGGTACCCCAAGTGGGT
TCAACATGATGTCGACTGGAGTTCCGTCTGGAAGGTAAGGCATGTCTTCTACA
10 GGAACGATACGAGAGACAACCCCTTTGTTTCCGTGACGTCCGGCCATTTTATC
TCCGACCTTAATCTTACGTTTTTTGAGCGATGTAAACACGAACCAACATGTTAAC
ACCTGATTGCAACTCATCTCCATTTACACGTGTAAAGATCTTAACATCACGAAC
GACACCATCGGCACCGTGTGGTACACGAAGAGAAGTATCACGCACTTCACGA
GACTTGTCTCCAAAGATAGCGTGCAAGAGACGTTCTTCAGCTGAAAGATCTTT
15 CTCACCCTTAGGTGTTACTTTACCTACAAGAATATCACCTTCTTTAACCTCAGCA
CCAATACGGATAATCCCATTTTCGTCAAGGTCTTTGAGGGCATCTTCACCAACG
TTTTGGAATTTGCGGAGTGATTTCTTCAGGTCCAA – 3'

SEQ.ID. n°13 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus oralis* CIP
20 102922^T mesurant 694 paires de bases :

5' –
ACTCGTGAAATTCCAAACGTTGGTGAAGATGCCCTTAAAGACCTTGACGAAAT
GGGTATTATCCGTATTGGTGCTGAGGTTAAAGAAGGAGATATCCTTGTAGGT
AAAGTCACACCTAAGGGTGAAAAAGACCTTTCTGCTGAAGAACGTCTCTTGCA
25 CGCTATCTTCGGAGACAAGTCTCGTGAAGTGCGTGATACTTCTCTTCGAGTAC
CTCACGGTGCCGATGGTGTGCTTCGTGATGTTAAGATCTTTACACGTGCAAAT
GGTGATGAGTTGCAATCTGGTGTGAATATGCTGGTTTCGTGTCTACATCGCTCA
AAAACGTAAGATCAAGTCGGAGATAAGATGGCCGGACGTCACGGAAACAAAG
GGGTTGTCTCTCGTATCGTTCCTGTAGAAGACATGCCTTACCTTCCAGATGGA
30 ACTCCAGTCGATATCATGTTGAACCCACTTGGGGTGCCATCACGTATGAATAT
CGGTCAGGTTATGGAAGTCCACCTTGGTATGGCAGCCCGTACTCTTGGTATCC
ACATCGCAACACCAAGTCTTTGACGGAGCAAGTTCGGAAGACCTTTGGGACACT
GTTAAAGAAGCAGGTATGGATAGCGATGCCAAAACAATCCTTTACGATGGAC

GTACAGGTGAGCCGTTTGACAACCGTGTATCAGTTGGTGTTCATGTACATGATC
AAACTCCA- 3'

SEQ.ID. n°14 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus mutans* CIP
5 103220^T mesurant 728 paires de bases :

5' - TGTTCATCAACCATGTGGTGAAGTTTAATCATATACATAACACCAACTGATA
CACGATTATCAAACGGCTCCCCTGTGCGACCATCATAAAGAACAGTTTTAGCA
TCAGAATCCATACCGGCTTCTTTTACTGTTTCCCAAAGATCATCAGAAGTTGCT
CCGTCAAAGACAGGCGTTGCAATATGAATGCCCAAATTACGAGCAGCCATACC
10 AAGATGGAGTTCCATAACTTGCCCAATGTTTCATCCGTGATGGCACCCCAAGTG
GATTAAGCATGATATCAACAGGTGTTCCATCTGGAAGATATGGCATATCTTCC
ACTGGTACAATACGGGAAACGACACCCTTGTTACCATGACGTCCGGCCATCTT
ATCTCCGACCTTGATTTTACGTTTTTTGAGCGATATAAACACGAACCAGCATGTT
AACACCTGATTGAAGTTCATCTCCATTAGCACGTGTAAAGATTTTCACATCACA
15 AACAAACACCGTCGCCACCATGAGGTACACGAAGAGAAGTATCACGAACCTTCAC
GTGATTTGTCACCAAAAATGGCATGCAAGAGGCGTTCTTCTGCAGAAAGATCT
TTTCTCCTTFFAGGAGTCACTTTACCAACTAGAATATCACCTECTTTAACCTCAG
CACCAATGCGAATAATTCCTATTTTCATCAAGGTCTTTCAGGGCATCTTCACCAA
CATTTGGGATTTTCACGCGTAATTTCTTCAGGTCCA - 3'

20

SEQ.ID.n°15 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus mitis* CIP
103335^T mesurant 730 paires de bases :

5'- TGTTCATCAACCATGTGGTGGAGTTTGATCATGTAACATGACTCCGACAGA
AAACACGGTTATCAAATGGTTCACCTGTACGTCCATCGTAAAGGATTGTTTTG
25 GCATCGCTATCCATACCAGCTTCTTTAACAGTTGACCAAAGATCTTCAGAACTT
GCTCCGTCAAAGACTGGTGTGCGATGTGAATACCAAGAGTACGAGCTGCCA
TCCCAAGGTGGAGTTCCATAACCTGACCGATATTCATACGTGATGGCACCCCA
AGTGGGTTCAACATGATATCGACTGGAGTTCCATCTGGAAGGTAAGGCATAT
CTTCTACAGGAACGATACGAGAGACAACCCCTTTATTTCCGTGACGTCCGGCC
30 ATCTTATCTCCGACCTTGATCTTACGTTTTTTGAGCGATGTAGACGCGAACCAG
CATGTTGACACCTGATTGCAATTCATCTCCATTTGCACGTGTAAAGATCTTAAC
ATCACGAACCACACCATCAGCTCCGTGTGGTACACGAAGAGAAGTGTACGTA
CTTCACGAGATTTATCTCCGAAGATAGCGTGCAAGAGCCGTTCTTCAGCTGAA
AGGTCTTCTCACCCCTTAGGTGTTACTTTACCTACAAGGATATCCCCTTCTTTA

ACCTCAGCACCGATACGGATAATACCCATTTTCGTCAAGATCTTTAAGGGCATC
TTCCCCAACGTTTGGGATTTACGAGTAATTTCTTCAGGTCCA – 3'

SEQ.ID. n°16 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus equinus*

5 CIP 102504^T mesurant 697 paires de bases :

5'-

CACTCGCGAAATTCCAAACGTTGGTGAAGAAGCTCTTAAAGACCTTGACGAAA
TGGGTATTATCCGTATCGGTGCTGAAGTTAAAGAAGGTGACATCCTTGTAGG
TAAAGTAACACCTAAAGGTGAAAAAGACCTTTCTGCTGAAGAGCGCCTTCTTC
10 ACGCAATCTTCGGTGATAAATCACGTGAAGTTCGTGATACATCACTTCGTGTA
CCACACGGTGGAGATGGTGTCTGTTTCGTGACGTTAAAATCTTTACACGTGCAAA
CGGTGATGAATTACAATCAGGTGTTAACATGCTCGTTTCGTGTTTATATCGCAC
AAAAACGTAAAATCAAAGTCGGAGATAAAATGGCCGGTCGTCACGGTAACAA
AGGGGTTGTTTCTCGTGTTGTTCCAGTTGAAGACATGCCTTATCTTCCAGACG
15 GAACTCCAGTCGATATCATGTTGAACCCACTTGGGGTGCCATCTCGTATGAAC
ATCGGACAAGTTATGGAGCTTCACCTTGGTATGGCTGCTCGTAACCTTGGTAT
TCACATTGCAACACCAGTCCTTGATGGGGCAACTTCTGAAGACCTTTGGGATA
CAGTTAACGAAGCTGGTATGGCTAGCGACGCTAAGACAGTTCTTTACGATGG
ACGTACTGGTGAACCATTTGATAACCGTGTGTTCAGTTGGTGTTCATGTACATGA
20 TTAAACTTCAC– 3'

SEQ.ID. n°17 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus constellatus*

CIP 103247^T mesurant 731 paires de bases :

5'- AGTTGTCATCAACCATGTGTGCAATTTAATCATATACATGACACCGACAGA

25 TACACGGTTGTCAAACGGCTCGCCCGTACGACCATCATAAAGAATCGTCTTGG
CATCGCTATCCATGCCTGCTTCACGAACAGTATCCCAAAGGTCATCTGAGCTT
GCTCCGTCAAATACTGGCGTTGCTATGTGGATACCAAGGTTGCGAGCAGCCA
TACCAAGGTGAAGCTCCATAACCTGTCCGATATTCATACGTGATGGCACCCCA
AGTGGGTTCAACATGATGTCTACTGGTGTTCGGTCTGGAAGATAAGGCATAT
30 CCTCAACTGGAACGATACGGGAAACAACCCCTTTATTTCCGTGGCGTCCGGCC
ATCTTATCCCCAACGCGGATCTTTCGTTTTTGAAGCAATGTAAACACGCACCAAC
ATGTTGACACCAGATTGCAATTCATCACCGTTCGCACGAGTAAAGATTTTCAC
ATCACGGACAACCCAGCACACCACCATGTGGTACACGAAGAGATGTGTTCACGTA
CTTCACGAGATTTATCACCGAAAATTGCATGAAGCAGGCGTTCTTCAGCGGAT

AAGTCTTTTTACCTTTCGGCGTTACTTTACCGACAAGAATGTCGCCCTCTTTC
ACCTCAGCACCAATGCGGATAATTCCCATTTTCGTCAAGGTCTCTTAGCGCATCT
TCCCCAACGTTTGGAATTCGCGCGTAATTTCTTCAGGTCCAA – 3'

- 5 SEQ.ID. n°18 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus anginosus*
CIP 102921^T mesurant 697 paires de bases :

5' –

CACGCGCGAAATTCCAAACGTCGGTGAAGATGCTTTGAGAGACCTTGACGAA
ACGGGAATTATCCGCATTGGTGCTGAGGTAAAAGAAGGCGACATTCTTGTCG
10 GTAAAGTAACACCGAAAGGTGAAAAAGACTTATCTGCTGAAGAACGCCTGCT
TCATGCAATTTTCGGTGATAAATCTCGTGAAGTACGTGATACTTCCCTTCGTGT
ACCACATGGTGGTGCAGGGGTTGTCCGTGATGTGAAAATCTTTACTCGTGCG
AACGGTGATGAATTGCAATCTGGTGTCAACATGTTGGTACGTGTTTACATCGC
TCAAAAACGGAAAATCCGTGTTGGGGATAAGATGGCTGGACGTCACGGAAAC
15 AAAGGGGTTGTTTCCCGCATTGTTCCAGTTGAGGATATGCCGTATCTTCCAGA
TGGAACACCAGTTGATATTATGTTGAACCCACTTGGGGTGCCATCTCGTATGA
ATATTGGTCAAGTTATGGAGCTTCACCTCGGTATGGCTGCTCGCAACCTTGGC
ATTCACATTGCAACACCAGTATTTGACGGGGCTAGCTCAGATGATCTTTGGGA
AACCGTTCGTGAAGCTGGCATGGATAGCGATGCTAAGACAATCCTTTATGAT
20 GGCCGTACTGGTGAGCCATTTGATAATCGTGTATCCGTTGGTGTGATGTACAT
GATCAAACCTCCAC – 3'

SEQ.ID. n°19 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus*
dysgalactiae CIP 102914^T mesurant 728 paires de bases :

25 5' – TGTCATCAACCATGTGGTGGAGTTTAATCATGTACATGACACCAACGGAT
ACACGGTTGTCAAATGGTTCGCCAGTACGTCCATCATAAAGGACCGTCTTAGC
ATCGCTATCCATACCAGCTTCACGAACAGTGTCCCAAAGGTCTTCTGATGAAG
CCCCGTCAAAGACAGGTGTTGCAATGTGAATACCAAGATTACGAGCAGCCATA
CCAAGGTGAAGTTCCATAACCTGACCAATGTTTCATCCGTGATGGCACCCCAAG
30 AGGGTTCAACATGATGTCAACTGGTGTTCATCTGGAAGGTATGGCATGTCTT
CAACTGGTACAATACGTGAAACGACACCCTTGTTTCCGTGACGACCAGCCATT
TTATCTCCGACTTTGATCTTACGTTTTTGAGCAATGTAAACACGCACAAGCATA
TTAACACCTGATTGCAATTCATCGCCGTTAGCGCGTGTAAGATTTTCACATCA
CGAACGATACCATCACCACCGTGAGGTACACGAAGGGACGTATCACGAACTTC

ACGTGATTTATCTCCAAAGATGGCATGCAAGAGACGCTCTTCAGCAGAAAGGT
CTTTTTCACCTTTAGGTGTGACTTTACCTACTAAGATGTCGCCTTCTTTAACCTC
AGCACCGATACGGATAATTCCCATTTTCGTCAAGGTCTTTGAGCGCTTCTTCACC
AACGTTTGGAATTTTCGCGGGTGATTTCTTCAGGTCAA – 3'

5

SEQ.ID. n°20 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus bovis* CIP 102302^T mesurant 728 paires de bases :

5' – TGTCAATCAACCATGTGGTGAAGTTTGATCATGTACATGATACCAACAGAG
ACACGATTATCAAATGGTTCACCTGTACGACCGTCATAAAGAACTGTCTTAGC
10 GTCGCTATCCATACCAGCTTCACGAACAGTATCCCAAAGGTCTTCTGAAGTTG
CCCCGTCAAAGACTGGAGTTGCAATGTGAATACCGAGGTTACGAGCTGCCAT
ACCAAGGTGAAGTTCCATAACTTGTCCGATATTCATACGAGATGGCACCCCCAA
GAGGGTTCAACATGATATCAACTGGAGTTCCGTCTGGAAGATATGGCATGTC
TTCAACAGGAACGATACGAGAAACAACCCCTTTGTTTCCGTGACGACCGGCCA
15 TTTTATCTCCGACTTTGATTTTACGTTTTTGTGCAATGTAAACACGAACGAGCA
TGTTGACACCTGATTGCAATTCATCACCGTTAGCACGTGTGAAGATTTTAAACA
TCAGGAACAACACCGTCTCCACCGTGTGGCACACGAAGTGATGTATCACGTAC
TTCACGAGATTTATCACCGAAGATTGCGTGAAGAAGGCGTTCTTCAGCAGAAA
GGTCTTTTTTCACCTTTAGGTGTTACTTTACCTACAAGGATATCACCTTCTTTAA
20 CTTCAGCACCGATACGGATAATACCCATTTTCGTCAAGGTCTTTAAGAGCTTCTT
CACCAACGTTTGGAATTTTCGCGAGTGATTTCTTCAGGTCAA – 3'

SEQ.ID. n°21 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus acidominimus* CIP 82.4^T mesurant 728 paires de bases :

25 5' – TTGTCATCAACCATGTGGTGGAGCTTAATCATGTACATGACACCAACAG
ACACACGGTTATCAAATGGTTCACCAGTACGACCATCATAAAGAATCGTTTTA
GCATCGCTGTCCATTCTTGCCTCTTTAACAGTTGACCAGAGATCCTCTGAGCTC
GCACCATCGAAAACCGGTGTTGCGATATGGATACCCAAGTTACGAGCAGCCAT
ACCCAAGTGCAGTTCCATAACCTGACCAATATTCATACGAGATGGCACCCCCAA
30 GTGGGTTCAACATGATGTCAACTGGTGTTCATCTGGAAGATATGGCATGTCT
TCAACTGGTACAATACGAGAAACGACACCCCTTGTTACCGTGACGACCGGCCAT
CTTATCTCCGACCTTAATCTTGCGTTTTTGAGCGATATACACACGTACCAGCAT
ATTAACACCAGACTGTAGCTCATCACCATTAGCACGCGTAAAGATTTTCACATC
ACGAACAACACCATCTGCACCGTGTGGCACACGTAGAGAGGTATCACGTACTT

CACGTGATTTGTCACCGAAGATAGCATGCAAGAGACGCTCCTCAGCAGAAAG
ATCTTTTTCACCTTTTGGTGTACCTTACCAACAAGAATATCGCCTTCTTTAACT
TCTGCACCGATACGGATAATACCCATTTTCGTCAAGGTCTTTGAGGGCTTCTTC
ACCAACGTTTGGGAATTTACGAGTAATTTCTTCAGGTCA – 3'

5

SEQ.ID. n°22 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus agalactiae*
CIP 103227^T mesurant 733 paires de bases :

5' – TGAGTTGTCATCAACCATGTGGTGAAGTTTGATCATGTACATGACACCAA
CTGACACACGGTTATCGAATGGTTCACCAGTACGACCATCATAAAGAACAGTC
10 TTAGCATCTGAATCCATACCTGCTTCTTGAACAGTTTCCCAAAGGTCTTCTGAA
GAAGCCCCATCAAAGACTGGCGTTGCAATATGAATACCTAAATTACGAGCAGC
CATACCTAAATGAAGCTCCATAACTTGTCCGATATTCATACGTGATGGCACCCC
AAGTGGGTTCAACATGATATCAACTGGCGTTCCATCTGGTAAGTAAGGCATAT
CTTCAACAGGAACAATACGTGAGACGACACCTTTGTTTCCGTGACGACCGGCC
15 ATCTTATCACCGACTTTGATTTTACGTTTTTGAGCGATATAAACGCGGACAAG
CATATTAACACCTGATTGCAATTCATCACCATTTGCACGAGTAAAGATTTTAAC
'GTCACGAACTACTCCATCGCCACCGTGAGGTACACGTAGTGAAGTATCACGAA
CTTCACGTGATTTATCACCAAAAATGGCATGCAAGAGACGTTCTTCAGCAGAT
AAGTCCTTTTCACCCTTAGGTGTTACCTTACCAACAAGAATGTCACCTTCTTTT
20 ACCTCAGCACCAATGCGGATAATTCCCATTTTCATCGAGATCACGTAGTGAATC
TTCACCAACATTTTGGATTTACGAGTAATTTCTTCAGGTCCA – 3'

SEQ.ID. n°23 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus difficilis* CIP
103768^T mesurant 714 paires de bases :

25 5' – TTGTCATCAACCATGTGGTGAAGTTTGATCATGTACATGACACCAACTGAC
ACACGGTTATCGAATGGTTCACCAGTATGACCATCATAAAGAACAGTCTTAGCAT
CTGAATCCATACCTGCTTCTTGAACAGTTTCCCAAAGGTCTTCTGAAGAAGCCCC
ATCAAAGACTGGCGTTGCAATATGAATACCTAAATTACGAGCAGCCATACCTAAA
TGAAGCTCCATAACTTGTCCGATATTCATACGTGATGGCACCCCAAGTGGGTTCA
30 ACATGATATCAACTGGCGTTCCATCTGGTAAATAAGGCATATCTTCAACAGGAAC
AATACGTGAGACGACACCTTTGTTTCCGTGACGACCGGCCATCTTATCACCGACT
TTGATTTTACGTTTTTGAGCGATATAAACGCGGACAAGCATATTAACACCTGATT
GCAATTCATCACCATTTGCACGAGTAAAGATTTTAACGTACGAACTACTCCATC
GCCACCGTGAGGTACACGTAGTGAAGTATCACGAACTTCACGTGATTTATCACCA

AAAATGGCATGCAAGAGACGTTCTTCAGCAGATAAGTCCTTTTCACCCTTAGGCG
TTACCTTACCAACAAGAATGTCACCTTCTTTTACCTCAGCACCAATGCGGATAATT
CCCATTTTCATCGAGATCACGTAGTGAATCTTCACCAACATTTGGAATTTACAGAG
TA – 3'

5

SEQ.ID. n°24 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus intermedius*
CIP 103248^T mesurant 728 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGGTGAAGCTTAATCATGTACATGACACCAACGGAC
ACACGGTTATCAAACGGTTCGCCAGTACGTCCATCATAAAGGATTGTCTTAGC
10 ATCGCTATCCATACCTGCTTCACGAACGGTTTCCCAAAGATCATCTGAGCTAGC
TCCGTCAAAGACTGGCGTTGCAATGTGGATACCAAGTTGCGAGCAGCCATAC
CGAGGTGCAATTCCATAACTTGTCCGATATTCATACGTGACGGCACCCCAAGA
GGATTCAACATGATATCAACTGGTGTCCCGTCTGGAAGATACGGCATATCCTC
AACTGGAACAATGCGGGAAACAACCCCTTTGTTTCCGTGGCGTCCGGCCATCT
15 TATCTCCAACGCGGATTTTCCGTTTTTGTAGCGATATAAACACGTACCAACATGT
TGACACCGGATTGCAATTCATCACCGTTTCGCACGAGTAAAGATTTTTACATCAC
GGACAACACCTGCACCACCGTGTGGTACACGAAGGGAGGTATCACGCACTTC
ACGAGACTTATCACCAAAAATTGCATGAAGCAGGCGTTCTTCAGCGGATAAAT
CTTTTTCACCTTTCGGCGTTACTTTACCGACAAGAATGTCGCCTTCTTTTACCTC
20 AGCACCAATGCGGATAATTCCCATCTCGTCAAGGTCTCTCAAAGCATCTTCCCC
GACGTTTGGAATTTTCGCGCGTGATTCTTCAGGTCCA – 3'

SEQ.ID. n°25 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Streptococcus equi* CIP
102910^T mesurant 728 paires de bases

25 5'- TGTCATCAACCATGTGGTGAAGCTTAATCATATACATGACACCAACTGAC
ACACGATTATCAAACGGCTCACCAGTACGGCCATCATAAAGAACAGTCTTAGC
ATCGCTATCCATACCTGCTTCACGAACAGTTTCCCAAAGGTCCTCAGACGTAGC
TCCGTCAAAGACCGGTGTTGCGATATGGATACCCAAATTACGAGCAGCCATAC
CTAGGTGAAGCTCCATAACCTGTCCAATGTTTCATACGAGACGGCACCCCAAGA
30 GGGTTCAGCATGATGTCAACAGGGGTTCGGTCTGGCAGATATGGCATATCCT
CAACCGGTACAATACGTGAGACGACACCCTTGTTACCATGACGCCCCGGCCATT
TTATCTCCGACCTTGATTTTACGCTTTTGTAGCAATGTAAACACGCACCAGCATA
TTAACACCTGATTGAAGCTCATCACCATTTGCGCGTGTAAGATCTTCACATCA
CGTACAATCCCGTCACCACCATGAGGAACACGTAACGAGGTATCACGAACCTC

ACGTGATTTATCACCAAAGATAGCATGCAGGAGACGTTCTTCAGCAGAAAGG
TCTTTTTCACCCTTAGGAGTTACCTTACCAACAAGAATATCGCCTTCCTTGACC
TCTGCACCGATACGGATAATACCCATTTTCATCAAGGTCCTTGAGGGCTTCTTCA
CCAACGTTTGGCACTTCACGTGTGATTTCTTCAGGTCCA – 3'

5

SEQ.ID. n°26 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Enterococcus gallinarum*
CIP 103013^T mesurant 694 paires de bases :

5'-

CACTCGTGAAATCCCGAATGTCGGGGAAGACGCATTGAAAGATCTAGACGAA
10 ATGGGTATCATCCGCATTGGTGCGGAAGTCAAAGATGGCGATCTGTTGGTTG
GTAAAGTAACGCCTAAAGGGGTAACGGAACCTATCTGCAGAAGAACGCTTGCT
TCATGCAATCTTTGGTGAAAAAGCCCGCGAAGTCCGCGATACTTCTCTGCGCG
TACCTCACGGTGGTGGCGGAATCGTCCATGATGTGAAAATCTTTACCCGCGAA
GCTGGCGATGAATTGTCACCAGGTGTCAATATGCTCGTTCGCGTGTATATCGT
15 TCAAAAACGGAAAATCCATGAAGGGGATAAAATGGCCGGCCGTCACGGAAAT
AAAGGGGTCGTTTCTCGCATTATGCCAGAAGAAGACATGCCTTTCTTACCAGA
CGGTACACCAGTTGATATCATGTTGAACCCATTAGGGGTGCCTTCACGGATGA
ACATTGGACAAGTATTGGAATTACACTTAGGAATGGCTGCCCGCCAATTAGGA
ATCCACGTGGCTACACCAGTCTTTGATGGTGCCAGCGATGAAGATGTCTGGG
20 CAACAGTTGCAGAAGCCGGCATGGCTAGCGACGCCAAAACCGTTTTGTATGA
TGGCCGTA CTGGAGAACCATTTGATGGTCGAATCTCCGTAGGTGTCATGTATA
TGATCAAATTGGCC – 3'

SEQ.ID. n°27 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Enterococcus*
25 *casseliflavus* CIP 103018^T mesurant 727 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGGGCCAATTTGATCATGTACATGACACCAACGGAG
ATGCGGCCATCAAATGGTTCGCCGGTACGTCCGTCGTAAAGCACTGTTTTGGC
ATCGCTGGCCATTCTTGCTTCAGCAACCGTTGCCCAAACATCTTCATCGCTGGC
TCCATCAAAGACTGGTGTTGCCACGTGAATGCCTAATTGACGCGCAGCCATTC
30 CTAAGTGTA ACTCTAATACTTGTCCAATGTTTCATCCGAGAAGGTACCCCTAATG
GGTTCAGCATGATATCGACTGGTGTGCCATCTGGTAAGAAAGGCATGTCTTCT
TCTGGCATAATGCGAGAAACGACCCCTTTGTTTCCGTGACGTCCGGCCATTTT
ATCCCCTTCATGGATTTTCCGTTTTTGAACGATATAAACGCGAACCAGCATGTT
CACACCTGGTGACAATTCATCGCCAGCTTCGCGGGTAAAGATTTTGACATCGT

GGACGATTCCGCCGCCGCCGTGAGGCACGCGTAGAGAAGTGTACGCACTTC
GCGGGCTTTTTACCAAAGATTGCGTGCAACAAACGCTCTTCTGCTGAAAGTT
CCGTTACCCCTTTTGGCGTGACTTTCCCAACAAGCAGATCGCCATCTTTGACTT
CCGCACCAATGCGGATAATGCCCATTTTCGTCTAGGTCTTTCAACGCGTCTTCCC
5 AACGTTTCGGGATTTTCGCGAGTGATTTCTTCAGGTCCA – 3'

SEQ.ID. n°28 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Enterococcus saccharolyticus* CIP 103246^T mesurant 721 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGGGCAAGTTTAATCATGTACATTACCCCAACAGAG
10 ATACGACCATCGAATGGTTCACCCGTACGTCCGTCATAAAGAACAGTTTTCGC
ATCGCGCGCCATGCCCGCTTCGCGAACTGTTTCCCATACGTACATCTGATGC
ACCATCAAATACTGGTGTAGCTACATGGATGCCTAACTGACGTGCAGCCATCC
CTAAGTGTAATTCCAATACTTGTCCGATGTTTCATACGAGATGGTACTCCTAGT
GGGTTCAACATGATATCAACTGGTGTGCCGTCTGGTAAGAATGGCATGTCTTC
15 TTCTGGCATAATGCGAGAGACAACCCCTTTGTTACCATGACGTCCCGCCATTTT
ATCTCCTTCGTGAATCTTACGTTTTTGCACGATATAAACACGAACATAACATGTT
CACACCTGGAGATAATTCGTCGCCTGCTTCACGGGTAAAGATTTTAACATCGT
GAACGATACCGCCACCGCCGTGAGGAACACGTAATGATGTATCACGTACTTCA
CGTGCTTTTTTACCGAAGATTGCGTGCAATAGACGTTCTTCTGCAGATAATTC
20 GGTTACCCCTTTAGGAGTGACTTTACCTACTAATAAGTCGCCATCTTGTACTTC
GGCACCGATACGGATAATACCCATTTTCGTCTAAGTCTTTTAATGCGTCTTCCCC
AACGTTAGGAATTTTCGCGTGTATTCTTCAG – 3'

SEQ.ID. n°29 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Enterococcus faecium* CIP
25 103014^T mesurant 727 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGAGCAAGTTTGATCATGTACATCACACCGACAGAC
ACACGTCCATCAAATGGTTCACCTGTACGTCCGTCTGACAGAACAGTTTTCGC
ATCGCTGGCCATACCGGCTTCACGAACCTGTTTCCCATACGTCTTCATCACTTGC
ACCATCAAATACTGGCGTTGCTACGTGGATACCTAACTGACGTGCAGCCATAC
30 CCAAGTGTAATTCCAATACTTGCCCGATGTTTCATACGTGAAGGCACCCCTAAA
GGATTCAGCATGATATCGATTGGTGTTCATCAGGTAGGAATGGCATATCTTC
TTCCGGCATAATACGGGATACAACCCCTTTATTTCCGTGACGACCGGCCATTTT
ATCCCCTTCATGGATTTTACGTTTTTGAACGATATAAACACGAACATAACATGTT
TACGCCTGGTGACAATTCATCTCCAGCTTCACGAGTAAAGATTTTCACATCGT

GAACGATACCGCCGCCGCCATGTGGTACACGTAATGATGTATCGCGGACTTCA
CGAGCTTTTTTCGCCAAAGATCGCATGCAATAGACGTTCTTCTGCAGATAATTCT
GTTACCCCTTTTGGCGTGACTTTCCCTACAAGCAAATCGCCATCTTGGACTTCT
GCACCAATACGGATGATACCCATTTTCGTCTAAATCTTTAATGCGTCTTCCCGA
5 CATTAGGGATTTCGCGTGTGATTTCTTCAGGTCCA – 3'

SEQ.ID. n°30 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Enterococcus faecalis* CIP
103015^T mesurant 724 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGGGCTAATTTAATCATATACATGACACCAACGGAA
10 ATACGGTTATCAAATGGTTCACCTGTACGTCCATCGTAAAGAACTGTTTTAGC
ATCGCTAGCCATACCAGCTTCACGAACAGTTTCCCAAACGTCTTCATCGGTTGC
CCCATCGAAAACAGGTGTTGCGACGTGAATACCTAATTGGCGAGCAGCCATAC
CTAAGTGTAATTCAAGTACTTGTCCGATATTCATACGAGAAGGTACCCCTAAT
GGGTTCAACATGATATCAACAGGTGTTCCGTCAGGTAAGAATGGCATATCTTC
15 TTCCGGCATAATACGGGAAACAACCCCTTTATTTCCGTGACGTCCCGCCATTTT
ATCTCCTTCGTGAATTTTACGTTTTTGAACGATATAGACACGAACATAACATGTT
GACACCTGGTGATAATTCATCGCCAGCTTCACGAGTAAAGATTTTCACATCAT
GAACGATACCGCCGCCACCGTGAGGTACACGGAGAGACGTATCACGAACCTC
GCGGGCTTTTTCCCCGAAGATTGCGTGTAATAAACGTTCTTCTGCAGATAATT
20 CTGTGACCCCTTTAGGTGTGACTTTCCCAACTAGTAAGTCGCCATCTTGAACCT
CAGCACCAATGCGGATAATCCCCATTTTCGTCTAAGTCTTTCAACGCGTCTTCCC
AACGTTTGGAATTTACGGGTATTTCTTCAGGTCA – 3'

SEQ.ID. n°31 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Enterococcus avium* CIP
25 103019^T mesurant 570 paires de bases :

5'- GTCCATCATAAAGAACGGTCTTAGCATCTGCTGCCATACGAGCTTCACGA
ACTGTTTCCCAAACATCGCTATCTTGCGCACCATCGAAGACTGGTGTGCAAC
ATGGATACCTAGTTGGCGAGCCGCCATTCCCAAGTGTAATTCCAACACTTGTC
CGATGTTTATCCGAGATGGCACACCTAATGGGTTCAACATGATATCAACTGGC
30 GTACCGTCTGGTAAGAAAGGCATGTCTTCTTCTGGCATAATGCGAGAAACGA
CCCTTTTATTTCCGTGACGGCCGGCCATTTTATCCCTTCATGAATCTTACGTT
TTTGACGATGTACACGCGCACTAACATATTTACACCTGGAGATAATTCATCGC
CTGCTTCACGAGTAAAGATCTTCACATCGTGAACGATCCCGCCGCCACCATGC
GGTACACGAAGAGATGTATCACGAACCTTCACGAGCCTTTTCACCAAAGATCGC

ATGCAACAAACGTTCTTCAGCTGATAATTCTGTTACCCCTTTAGGAGTGACTTT
ACCAACTAATAAATCACCATCATGAACCTTCAGCACCAATAC -3'

SEQ.ID. n°32 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Abiotrophia defectiva* CIP
5 103242^T mesurant 732 paires de bases :

5'- GAAGTTGTCATCAACCATGTGGGCCAACTTAATCATGTACATAACCCCAA
CAGAGACTTTACGGTCAAATGGTTCACCGGTTTCGACCATCATATAAGATAGTC
TTAGCGTCAGCTTCTAAGCCGGCTTCCTTAACTGTTTCCCAGACATCTTCTTCA
CTAGCACCGTCAAAGACAGGTGTTGCAATCTTGATGCCCATTTTCGCGAGCAGC
10 CATCCCCAAGTGTAACCTCTAGGACTTGCCCGATGTTTCATACGGGATGGAACCC
CTAATGGGTTCAACATGATATCAACTGGGGTACCATCTGGTAAGAATGGCATA
TCTTCTTCCGGCATGATAAGGGAGACAACCCCTTTGTTACCGTGACGACCGGC
CATCTTATCCCTTCATTGATTTTACGTTTTTGTACGATGTAGACGCGGACTAG
CTTGTTGACACCTGGTGCCAATTCGTCGCCAGCTTCGCGGGTAAAGATTTTAA
15 CGTCGTGGACAATCCCGCCCCCGCCGTGTGGCACACGCAAGGAAGTATCACG
TACTTCACGCGCCTTCTCACCGAAGATAGCATGGAGCAAGCGTTCTTCCGCAG
ACAACCTCGGTCACACCTTTTGGTGTTACCTTACCAACTAAGATATCGCCGTCTT
TACTTCCGCCCCGATACAGATAATCCCGTCTTGGTCTAAGTACTTGAGGGCA
TCTTCGGACACGTTTGGAATTTTCGCGTGTAATTTCTTCAGGTCA - 3'

20

SEQ.ID. n°33 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Gemella morbilorum* CIP
81.10^T mesurant 727 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGTGCAAGTTTATCATGTACATTACCCCTACAGATAC
ACGGCTATCAAATGGCTCACCTGTACGTCCGTCATAAAGAACTGTCTTAGCAT
25 CTTTAGCCATTCCAGCTTCCGCAACTGTAGACCAAACATCTTCATCAGTAGCAC
CATCGAATACTGGTGTAGCTACGTGGATTCCAAGTTGTTTAGCAGCCATACCT
AAGTGTAGCTCTAATACTTGTCCAATGTTTCATACGAGATGGAACCCCAAGTGG
GTTTAAACATTACGTCAACTGGTGTACCATCTGGTAGGTAAGGCATATCTTCTT
CTGGTAAGATATTTGAGATAACCCCTTTGTTACCGTGACGACCGGCCATTTTA
30 TCTCCTACACGAATTTTACGTTTTTGGACGATAAATACACGAACAAGTTCATTT
ACACCGTTAGGTAATTCAGCACCATCTTCACGTTTAAAGATTTTAAACATCAGCA
ACTACTCCATCAGCACCGTGAGGTACACGTAATGAAGTATCACGTACTTCTTTA
GATTTAGCTCCAAAGATAGCATATAATAATTTTCTTCTGGAGTTTGTTTCAGTT
AATCCTTTCGGTGTAACCTTACCTACTAAAATATCTCCATCTTTAACTTCAGCC

CCAATACGAATGATTCTCTCGTGCATCTAAGTTTCTAAGTGCATTTTCACCCTAC
GTTTGGAATCTCACGAGTAATTTCTTCAGGTCA – 3'

SEQ.ID. n°34 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Gemella haemolysans* CIP
5 101126^T mesurant 726 paires de bases :

5'- TGTCATCAACCATGTGTGCAAGTTTAATCATGTACATTACCCCTACAGATA
CACGGCTATCAAATGGCTCACCTGTACGTCCGTCATAAAGAAGTGTCTTAGCA
TCTTTAGCCATTCCAGCTTCCGCAACTGTAGACCAAACATCTTCATCAGTAGCA
CCATCGAATACTGGTGTAGCTACGTGGATTCCAAGTTGTTTAGCAGCCATACC
10 TAAGTGTAGCTCTAATACTTGTCCAATGTTTCATACGAGATGGAACCCCAAGTG
GGTTTAACATTACGTCAACTGGTGTACCATCTGGTAGGTAAGGCATATCTTCT
TCTGGTAAGATATTTGAGATAACCCCTTTGTTACCGTGACGACCGGCCATTTT
ATCTCCTACACGAATTTTACGTTTTTGGACGATAAATACACGAACAAGTTCATT
TACACCGTTAGGTAATTCAGCACCATCTTCACGTTTAAAGATTTTAACATCAGC
15 AACTACTCCATCAGCACCCTGAGGTACACGTAATGAAGTATCACGTACTTCTTT
AGATTTAGCTCCAAAGATAGCATATAATAATTTTTCTTCTGGAGTTTGTTTCAGT
TAATCCTTTCGGTGTAACCTTACCTACTAAAATATCTTCATCTTTAACTTCAGC
CCCAATACGAATGATTCTCTCGTGCATCTAAGTTTCTAAGTGCATTTTCACCTAC
GTTTGGAATCTCACGAGTATTCTTCAGGTCCA – 3'

20

SEQ.ID. n°35 : séquence partielle du gène *rpoB* chez *Granulicatella adjacens*
CIP 103243^T mesurant 719 paires de bases :

5'- CATCAACCATGTGAGCAAGTTTGATCATGTACATAACCCCTACTGACACA
CGGTTATCGAATGGTTCCCCTGTACGTCCATCATATAGAATTGTTTTCGCATCA
25 CGAGCCATACCCGCTTCTGCAACAGTTCCCCATACGTCTTCATCTTGCGCACCA
TCGAATACTGGTGTGCGATGTAAATACCTAATTCACGAGCAGCCATCCCTAA
GTGTAACCTCTAACACTTGTCCGATGTTTCATACGTGAAGGTACCCCTAATGGGT
TTAACATGATGTCAACTGGTGTTCATCTGGTAAAGATGGCATATCTTCTTCC
GGCATAATACGGGAAACAACCCCTTTATTACCGTGACGTCCGGGCCATCTTATC
30 CCCTTCATTGATTTTACGTTTTTGTACAATATATACACGAACCTAATTTGTTTACG
CCAGGTGCTAATTCATCACCTGCTGCACGTGTGAATACACGTACATCACGGAC
AATACCGCCACCGCCGTGAGGTACACGTAGAGATGTGTCACGAACCTTCACGA
GCTTTTTACCGAAGATTGCGTGTAATAAACGTTCCCTCTGGTGATTGTTCTGTT
AACCCTTTAGGAGTTACTTTACCAACTAAGATGTCACCATCTTTAACTTCGGCA

CCGATACGAATAATTCCGTCTGCGTCTAGGTTCTTCAATGCGTCTTCCCAACGT
TTGGAATCTCACGAGTAATTCTTCAGG – 3'

Dans les séquences ci-dessus, le nucléotide M désigne A ou C, le nucléotide R désigne A ou G, le nucléotide W désigne A ou T, le nucléotide Y désigne C ou T et le nucléotide N désigne A, T, C ou G.

Dans les séquences ci-dessus, les références CIP se rapportent à des dépôts à la Collection Nationale de Culture des Microorganismes (CNCM) de l'Institut Pasteur à Paris (France).

Exemple 3. Identification en aveugle d'une collection de 20 souches bactériennes comprenant 10 souches de bactéries appartenant aux genres *Streptococcus* et genres apparentés.

Une collection de vingt souches appartenant aux espèces bactériennes suivantes: *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus sanguis*, *Granulicatella adjacens*, *Abiotrophia defectiva*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus faecalis*, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus anginosus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas oleovorans*, *Mycobacterium avium*, *Bacillus cereus*, *Acinetobacter anitratus*, *Corynebacterium amycolatum*, *Klebsiella terrigena*, *Pasteurella*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Staphylococcus*, a été codée de façon à réaliser une identification moléculaire en aveugle (l'expérimentateur ne connaissant pas a priori l'identité des souches) des souches selon le procédé décrit dans la présente demande de brevet. L'extraction des acides nucléiques ainsi que l'amplification du fragment du gène *rpoB* ont été réalisées comme décrites dans l'exemple n°2 en incorporant des amorces consistant dans des mélanges de 4 oligonucléotides qui ont des séquences consistant dans les séquences SEQ ID N°6 (comme amorce 5')° et SEQ ID N°7 (comme amorce 3') avec N représentant l'inosine, dans une amplification PCR (Fig. 1). Le séquençage de ces 10 amplifiats a été réalisé en incorporant dans la réaction de séquençage les amorces SEQ ID N°6 et SEQ ID N°7 comme décrit dans l'exemple n°2 et la comparaison des séquences obtenues avec les séquences SEQ.ID n° 1 à 5 et 8 à 35 a permis d'identifier les dix souches amplifiées comme étant *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus sanguis*, *Granulicatella adjacens*, *Abiotrophia defectiva*, *Enterococcus avium*,

Enterococcus faecalis, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbilorum*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus anginosus*. Le décodage de ces 10 souches a montré 100% de concordance entre l'identification moléculaire selon le procédé faisant l'objet de la présente invention et l'identification établie antérieurement par les méthodes phénotypiques standard. Ce résultat illustre la spécificité du jeu d'amorces SEQ ID N°6/SEQ ID N° 7 utilisé pour ce travail.

Les autres bactéries choisies pour ce qu'elles sont fréquemment isolées dans les prélèvements cliniques humains ou animaux susceptibles de contenir également des bactéries du genre *Streptococcus*, n'ont pas été amplifiées, démontrant ainsi la spécificité des amorces utilisées pour le genre *Streptococcus* et dits 4 genres apparentés dans les conditions d'utilisation pour la détection des bactéries du genre *Streptococcus* et dits 4 genres apparentés selon l'invention par rapport aux bactéries d'un autre genre.

Sur la figure 1 sont représentés les produits d'amplification PCR obtenus à partir de dix souches bactériennes codées, comportant 7 souches appartenant au genre *Streptococcus* et lesdits 4 genres apparentés (colonnes 2, 3, 4, 7 -11) et 3 souches bactériennes de genres bactériens autres que *Streptococcus* et lesdits 4 genres apparentés (colonnes 5,6 et 12). Les colonnes 1 et 13 représentent le marqueur de poids moléculaire. Les produits d'amplification sont obtenus après incorporation des amorces SEQ ID N°6 et SEQ ID N° 7 décrits ci-dessus et sont visualisés par coloration au bromure d'éthidium après électrophorèse sur un gel d'agarose.

REVENDICATIONS

1. Gène ou fragment de gène *rpoB* d'une bactérie du genre *Streptococcus* et des 4 genres apparentés *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella*, caractérisé en ce qu'il comprend une séquence choisie parmi
5 les séquences SEQ.ID. n° 8 à 35 dans lesquelles :

- le nucléotide K représente T ou G,
- le nucléotide M représente A ou C,
- le nucléotide R représente A ou G,
- le nucléotide W représente A ou T,
- 10 - le nucléotide Y représente C ou T,
- le nucléotide N représente A, T, C, G ou I, et

les séquences inverses et séquences complémentaires ainsi que les séquences présentant au moins 98,7% d'homologie, à l'exclusion des séquences SEQ ID n°11, 12, 14 et 22.

15 2. Gène *rpoB* d'une des bactéries *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus equinus*, *Abiotrophia defectiva* et *Enterococcus faecalis* selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il correspond à l'une des séquences choisie parmi les séquences SEQ.ID. n° 1 à 3 et SEQ ID n°5, dans lesquelles :

- le nucléotide K représente T ou G,
- 20 - le nucléotide M représente A ou C,
- le nucléotide R représente A ou G,
- le nucléotide W représente A ou T,
- le nucléotide Y représente C ou T,
- le nucléotide N représente A, T, C, G ou I,

25 et les séquences inverses et séquences complémentaires, ainsi que les séquences présentant au moins 98,7% d'homologie.

3. Fragment d'un gène *rpoB* d'une bactérie du genre *Streptococcus* et des 4 genres apparentés *enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella*, caractérisé en ce que sa séquence est comprise ou consiste dans l'une des
30 séquences SEQ.ID. n° 8 à 35, dans lesquelles :

- le nucléotide K représente T ou G,
- le nucléotide M représente A ou C,
- le nucléotide R représente A ou G,

- le nucléotide W représente A ou T,
- le nucléotide Y représente C ou T,
- le nucléotide N représente A, T, C, ou G

et les séquences inverses et séquences complémentaires, ainsi que les
5 séquences présentant au moins 98,7% d'homologie.

4. Oligonucléotide caractérisé en ce qu'il comprend une séquence
spécifique d'une espèce d'une bactérie du genre *streptococcus* et dits genres
apparentés, de préférence d'au moins 20 nucléotides consécutifs, de préférence
encore au moins 30 nucléotides consécutifs inclus dans l'une des dites
10 séquences SEQ ID n°8 à 35., dans lesquels :

- le nucléotide K représente T ou G,
- le nucléotide M représente A ou C,
- le nucléotide R représente A ou G,
- le nucléotide W représente A ou T,
- 15 - le nucléotide Y représente C ou T,
- le nucléotide N représente A, T, C, ou G

et les séquences inverses et séquences complémentaires, ainsi que les :
séquences présentant au moins 98,7% d'homologie.

5. Utilisation d'un gène, fragment de gène ou oligonucléotide selon
20 l'une des revendications 1 à 4 à titre de sonde d'espèce d'une bactérie du genre
streptococcus et dits genres apparentés.

6. Oligonucléotide caractérisé en ce qu'il comprend une séquence
d'au moins 8, de préférence au moins 12, de préférence encore 18 à 35 motifs
nucléotidiques, dont au moins une séquence de 8 motifs nucléotidiques
25 consécutifs inclus dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 6 et 7 suivantes :

- SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3', et
- SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTTRTCATCAACCATGTG-3',

dans lesquelles :

- N représente l'inosine ou l'un des 4 nucléotides A, T, C ou G,
- 30 - R représente A ou G,
- M représente A ou C, et
- Y représente C ou T,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

7. Mélange d'oligonucléotides, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un mélange équimolaire d'oligonucléotides selon la revendication 6, ayant tous une séquence différente et comprenant tous une séquence incluse dans SEQ ID n°6 ou tous une séquence incluse dans SEQ ID n°7.

5 8. Mélange d'oligonucléotides, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un mélange équimolaire de 32 oligonucléotides selon la revendication 7, de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence au moins 18 motifs nucléotidiques consécutifs, inclus dans la séquence suivante :

- SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3',

10 dans laquelle :

- R représente A ou G,
- Y représente C ou T,
- M représente A ou C, et
- N représente A, T, C ou G,

15 et les séquences inverses et séquences complémentaires.

9. Mélange d'oligonucléotides, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un mélange équimolaire de 8 oligonucléotides selon la revendication 7 de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence au moins 18 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante :

20 - SEQ ID N° 6 : 5' AARYTNGGMCCTGAAGAAAT-3',

dans laquelle :

- R représente A ou G,
- Y représente C ou T,
- M représente A ou C, et
- 25 - N représente l'inosine,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

10. Mélange d'oligonucléotides, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un mélange équimolaire de 16 oligonucléotides selon la revendication 7, de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence au moins 21 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante :

30 - SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTTRTCATCAACCATGTG-3',

dans laquelle :

- R représente A ou G, et

- N représente A, T, C ou G,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

11. Mélange d'oligonucléotides, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un mélange équimolaire de 4 oligonucléotides selon la revendication 7, de séquences différentes comprenant chacune au moins 15, de préférence au moins 21 motifs nucléotidiques consécutifs inclus dans la séquence suivante.:

- SEQ ID N°7: 5'-TGNARTTTTRTCATCAACCATGTG-3',

dans laquelle :

- R représente A ou G, et

10 - N représente l'inosine,

et les séquences inverses et séquences complémentaires.

12. Mélange d'oligonucléotides selon l'une des revendications 7 à 11, caractérisé en ce que lesdites séquences consistent dans les séquences SEQ.ID. n° 6 et 7 dans lesquelles, de préférence, N représente l'inosine, et les séquences inverses et séquences complémentaires.

13. Utilisation d'un oligonucléotide ou mélange d'oligonucléotides selon l'une des revendications 6 à 12, à titre d'amorce d'amplification ou sonde de genre d'une bactérie du genre *Streptococcus* et dits genres apparentés.

14. Procédé de détection par identification moléculaire d'une bactérie de l'une des espèces du genre *Streptococcus* et des 4 genres apparentés *Enterococcus*, *Gemella*, *Abiotrophia* et *Granulicatella*, caractérisé en ce qu'on utilise :

- un gène ou fragment de gène *rpoB* ou un oligonucléotide selon l'une des revendications 1 à 4 ainsi qu'un gène ou fragment de gène *rpoB* d'une bactérie *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans* et *Streptococcus agalactiae* comprenant une séquence telle que décrite respectivement dans les séquences SEQ. ID n°11, 12, 14 et 22, ainsi que les séquences inverses et séquences complémentaires, et séquences présentant au moins 98,7% d'homologie, et/ou

30 - au moins un oligonucléotide ou mélange d'oligonucléotides selon l'une des revendications 6 à 12.

15. Procédé selon la revendication 14 dans lequel on cherche à détecter la présence d'une bactérie du genre *streptococcus* ou desdits 4 genres apparentés, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes dans lesquelles:

5 1- on met en contact au moins une sonde de genre comprenant un dit mélange d'oligonucléotides selon l'une des revendications 7 à 12, avec un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Streptococcus* et ses dits 4 genres apparentés, et

10 2- on détermine la formation ou l'absence de formation d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde de genre et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon s'il y a formation d'un complexe d'hybridation.

16. Procédé selon la revendication 14, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes dans lesquelles :

15 1- on met en contact les amorces d'amplification comprenant desdits mélanges d'oligonucléotides selon l'une des revendications 7 à 12, avec un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Streptococcus* et lesdits 4 genres apparentés, et avec :

20 - comme amorce 5', un dit mélange d'oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans la séquence SEQ.ID. n°6, de préférence consistant dans ladite séquence SEQ ID N°6 complète, ou une dite séquence complémentaire selon l'une des revendications 7, 8, 9 ou 12, et

25 - comme amorce 3' un dit mélange d'oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans la séquence SEQ.ID. n°7, ou de préférence consistant dans ladite séquence SEQ ID N°7 complète ou une séquence complémentaire selon l'une des revendications 7, 10, 11 ou 12

30 2- on réalise une amplification d'acides nucléiques par réaction de polymérisation enzymatique et on détermine l'apparition ou l'absence d'un produit d'amplification, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si un produit d'amplification est apparu.

17. Procédé selon la revendication 14 ou 16, caractérisé en ce qu'on cherche à détecter spécifiquement une espèce donnée d'une bactérie du groupe *Streptococcus* et lesdits 4 genres apparentés choisie parmi les espèces :

Streptococcus mutans, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus pneumoniae*,
5 *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*,
... *Streptococcus suis*, *Streptococcus acidominimus*, *Streptococcus agalactiae*,
Streptococcus anginosus, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus difficilis*,
Streptococcus dysgalactiae, *Streptococcus equi*, *Streptococcus equinus*,
Streptococcus intermedius, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus bovis*,
10 *Streptococcus alactolyticus*, *Streptococcus gallolyticus*, *Streptococcus*
macedonicus, *Streptococcus infantarius*, *Streptococcus hominis*, *Granulicatella*
adjacens, *Abiotrophia defectiva*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus*
casseliflavus, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus*
gallinarum, *Enterococcus sacharolyticus*, *Gemella haemolysans* et *Gemella*
15 *morbilorum*,

procédé dans lequel :

1- on met en contact un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie, avec au moins une sonde d'espèce consistant dans un gène ou fragment de gène selon l'une des
20 revendications 1 à 3, ou un oligonucléotide selon la revendication 4, et

2- on détermine la formation ou l'absence d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon s'il y a formation d'un complexe d'hybridation.

25 18. Procédé selon la revendication 14, caractérisé en ce qu'on cherche à détecter une espèce donnée d'une bactérie du genre *Streptococcus* et lesdits 4 genres apparentés choisie parmi les espèces :

Streptococcus mutans, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus pneumoniae*,
Streptococcus pyogenes, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*,
30 *Streptococcus suis*, *Streptococcus acidominimus*, *Streptococcus agalactiae*,
Streptococcus anginosus, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus difficilis*,
Streptococcus dysgalactiae, *Streptococcus equi*, *Streptococcus equinus*,
Streptococcus intermedius, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus bovis*,

Streptococcus alactolyticus, *Streptococcus gallolyticus*, *Streptococcus macedonicus*, *Streptococcus infantarius*, *Streptococcus hominis*, *Granulicatella adjacens*, *Abiotrophia defectiva*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus sacharolyticus*, *Gemella haemolysans* et *Gemella morbillorum*, procédé dans lequel, dans un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Staphylococcus*, on effectue les étapes dans lesquelles :

a) on réalise une réaction de séquençage d'un fragment du gène *rpoB* amplifié d'une dite bactérie donnée à l'aide des amorces nucléotidiques consistant dans desdits mélanges d'oligonucléotides selon l'une des revendications 7 à 12 comprenant des séquences incluses dans la séquence SEQ.ID. n° 6 comme amorce 5' et SEQ.ID.n° 7 comme amorce 3', de préférence des séquences consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 6 et 7, et lesdites séquences complémentaires, et

b) on détermine la présence ou l'absence de l'espèce donnée de ladite bactérie en comparant la séquence dudit fragment obtenu avec la séquence du gène complet *rpoB* de ladite bactérie ou la séquence d'un fragment du gène *rpoB* de ladite bactérie comprenant respectivement lesdites séquences SEQ ID n° 8 à 35 selon l'une des revendications 1 à 4 et séquences complémentaires, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si la séquence du fragment obtenue est identique à la séquence connue du gène ou du fragment de gène *rpoB* de ladite bactérie.

19 Trousse de diagnostic utile dans un procédé selon l'une des revendications 14 à 18, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un dit oligonucléotide, mélange d'oligonucléotides, ou fragment de gène selon l'une des revendications 1 à 4 et 6 à 12.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13



FIG. 1

SEQUENCE LISTING

<110> UNIVERSITE DE LA MEDITERRANEE (Aix-Marseille II) et CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - CNRS

UNIVERSITE DE LA MEDITERRANEE (Aix-Marseille II) et CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - CNRS

<120> Identification moléculaire des bactéries du genre Streptococcus

<130> H52 437 cas 10 PCT MD

<160> 52

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 4523

<212> DNA

<213> Streptococcus anginosus

<220>

<221> misc_feature

<222> (266)..(2087)

<223> n représente a, t, c, g ou i

<220>

<221> misc_feature

<222> (266)..(4430)

<223> n représente a, t, c, g ou i

<220>

<221> misc_feature

<222> (4430)..(4503)

<223> n représente a, t, c, g ou i

<400> 1

tcatactttt agagtcagat ttagctgctc tttttgtgcc tgttttggga tttttgtcgt	60
ttgtcatcaa aattaaagat tctgaaaatt actcaaaaag gataaatgaa aattgctact	120
ctattccatt aatagagaat gtagaaagaa gaaggagtaa aaaacttggc aggacatgaa	180
gttcaatacg ggaaacaccg tactcgtcgt agtttttcaa gaatcaagga agttcttgat	240
ttaccaaatt tgattgaaat ccganggat tcgttcaaag attttcttga ccatggtttg	300
aaagaagtat ttgaagatgt acttcctatc tcaaacttta cagatacaat ggagctagag	360
tttgttgggt atgaaattaa aggatctaaa tacactttag aagaagcacg tatccatgat	420
gccagctatt ctgcacctat ttttgtgact ttccgtttga ttaataaaga aactggtgaa	480
atcaaaaccc aagaagtgtt ctttggcgat ttcccaatca tgacagaaat gggaactttc	540

attatcaatg gtggtagagc gattatcgta tctcagctcg ttcgttctcc aggtgtttac 600
ttcaacgata aagtaracaa aaatggtaaa gttggttatg gttcaactgy cattcctaac 660
cgtggagctt ggtagagctt ggaaacagac tcaaaagata ttgcttatac tcggattgac 720
cgtactcgta agattccgtt tacgacactt gttcgtgcgc ttggtttttc tggcgatgat 780
gaaatctttg acattttcgg cgacagcgat ctcggttcgca acacgattga aaaggatatt 840
cataaaaaatc caatggattc acgtacggat gaagcgctta aagaaatcta tgaacgtctt 900
cgtccagggtg agcctaaaac agctgatagt tcacgtagtc tattggtcgc tcgtttcttt 960
gatccacatc gttacgactt ggcggcagtt ggtcggtata aaatcaataa aaaattaaac 1020
attaaaacac gtttgtaaaa tcaaacgatt gcagagcctt tggtagatcc agaaacaggt 1080
gaaatcttgg ttgaagctgg aacggttatg acgcgtagtg tcattgatag cattgcagaa 1140
tacttgagc gtgatttgaa taaaatcact tatattccaa atgatgcagc tgtgttaaca 1200
gagccagttg ttcttcaaaa attcaaagtg gtggcgccaa ctgatccaga tcgtgtgggtg 1260
actattattg gtaatgccaa cccaggagat cgagttcata cgattacgcc agcagatatt 1320
ttggctgaga tgaattactt cttgaacctc gctgaaggac ttggtcgtgt ggacgatatt 1380
gaccacttgg gaaatcgctg gattcgtgcc gttgggtgaat tgcttgctaa ccaagtacgt 1440
cttggcttgt ctcgatgga gcgaaacgtt cgggagcgca tgagtgtgca agataatgaa 1500
gtgttgacac cgcaacaaat cattaacatc cgcccagtca cagcagctat caaagaattc 1560
tttggttcat ctcaattgtc tcaatttatg gaccaacata atccactgtc tgarttgtct 1620
cacaaacgyc gtttgtccgc cttgggacct ggtggtttga ctcgtagaycg tgctggatat 1680
gaargtgctg gacgtgcact acacncacta tggtcgtatg tgtccgattg aaacncctga 1740
vggaccaaac atcggtttga tcaayaactt gtcttcttat ggtcanttga ataaatatgg 1800
ctttatccaa acgccgtatc gtaaagtgra tcgtgaaaca ggtctggtca chaatgaaat 1860
cgtttggttg acagcggang aagaagatga atttattgta gcgcaagcaa attctaaatt 1920
aacagaagat ggtcggtttt cagaagcgat tgtcatggga cgtcaccaag ggaacaacca 1980
agaatttcct tcagatcarg trgatttcat ggatgtgtcg cctaagcagg tagttgccgt 2040
tgcgacagca tgtantccnk ttccytgaaa aygnacgact caarcntgn tstcatgggt 2100
gccaacatgc aacgtcaagc sgtaccgttg attgatccgc atgcaccata ygywggatana 2160
tggtatggaa taccaagcag antsaygamt ctggtgcggc tgattantgc mcaacacgac 2220
ggtaaagttg tmtattytga tgcagccaaa gttgaagttc gtcgtgaaga tggctcactt 2280

gtatgtntat catagntgac gaaattccgc cgtnnaaact gstggtacgt tgmttacaac 2340
acaacgtagc ggstggtaaa agattggcga tacagntgta aaaagggtgta stttatcgca 2400
gacggacctt ctatggaaaa aggtgaaatg gcrcttggac aaaayccaat cgttgcttat 2460
atgacatggg aaggttacaa ctttgaagat gccgttatca tgagtgagcg httagtgaaa 2520
gacgatgttt acacatctgt tcacttggag gaattcgaat cagaaacacg tgatacwaag 2580
cttaggmccct gaagaaatca ckcgcgaaat tccaaacgty ggtgaagatg ccnttygasa 2640
gaccttggac gaaaygggra ttataccgya ttggtgcyga rgttaaagag ggcgacattc 2700
ttgttggtaa agtcacacca aaagggtgaaa aagatctttc tgctgaagag cgtctcttgc 2760
acgcaatctt cggtgacaag tcacgtgaag tacgtgatac ytcycttcgt gtaccwcayg 2820
gtgsygcattg gkgyygtycg tgatgtgaaa atcttwactc gtgcsaacgg tgatgaattg 2880
caatcwgggtg tcaacatggt ggtacgtggt wcacntcgtt caaaaacgka araycamgtg 2940
tyggrgataa gatggcyggw cgtcacggaa acaaaggggt tgtttcccgcc attgttccag 3000
ttgaggatat gccgtatctt ccagatggaa caccagttga tattatgttg aaccacttg 3060
gggtgccatc tcgtatgaat attggtcaag ttatggagct tcacctcggt atggctgctc 3120
gcaaccttgg cattcacatt gcaacaccag tatttgacgg ggctagctca gatgatcttt 3180
gggaaaccgt tcgtgaagct ggcatggata gcgatgctaa gacaatcctt tatgatggcc 3240
gtactgggtga gccatcttgat aatcgtgtat ccgttgggtg catgtacatg atcaaactcc 3300
accatattgg tgatgataag ctccatgccc gttccgttgg tccttattca accgttacgc 3360
aacaacctct tgggtggtaaa gcgcagtttg gtggacaacg ttttggagaa atggaagttt 3420
gggtctcttg agcctacggt gcttctaacg tccttcaaga aatcttgact tacaagtcag 3480
atgacatcaa tggctgcttg agagcttatg aagccattac caaaggtaag ccaattccaa 3540
aaccagggtg tocagaatcc ttccgtgtcc ttgtaaaaga attgcaatca cttgggtcttg 3600
acatgcgtgt ccttgatgaa gacgacaatg aagtcgaact tcgtgacttg gacgaaggca 3660
tggatgatga tgtgattcat gtagacgac ttgaaaaagc acgtgaaaaa gcagcacaag 3720
aagcaaaagc cgcttttgat gctgaaggga agaataaga actgattcaa tagataataa 3780
agaaaggtaa gaaatagtgg ttgatgtaaa tcgttttcaa agtatgcaaa tcaccctagc 3840
ttctcctagt aaagtccgct cttggtctta tggagaagtg aagaaacctg aaacaattaa 3900
ctaccgcaca ctaaaaccag aacgcgaagg gctttttgat gaagtcactt ttggtcctac 3960
gaaagactgg gaatgtgcgt gtggaaaata taaacggatt cggtataaag gaatcatttg 4020

tgaccgttgt ggtgttgaag taactcgtac taaagttcgt cgtgaacgta tgggacatat 4080
tgagttgaaa gccccagtct cctcatatct ggtatcttaa aggaattcca antcgcattg 4140
gcntgacctt ggacatgagc cctcgtgctc ttgaagaagt catntanttt gcagcttatg 4200
tggtgantga ccctaaagat acnccacttg agcacaaatc cattatgaca gagcgggatg 4260
gttngtgaac gctgacntga atatggccaa ggctcttttg ttgcaaaaat gggtytgaa 4320
gcaatccaag atctnntgaa acangtagac ntggaaaaag aaattgcaga gctcaaagat 4380
gaattaaaaa cggcaagtgg gcaaaagcgc gtaaamgcta anttcgctcn tnnagactctt 4440
ttcgatnctt tccaaaaatc atggtacaca aaaccagaac tggatggtct taaaccatcn 4500
ntntcaccgc tcattccaga cac 4523

<210> 2

<211> 4118

<212> DNA

<213> Streptococcus equinus

<400> 2

cacgcgtggt cgacggcccc ggctgggtgaa ttgtcataag ttgtgtagta gtaaattccc 60
ttatcagtgt tgatgcatga gctataaata gtgtactcat atttgccact ttcacgaca 120
tagcaaagtc ctttttgttg ttcaacggat tttaaaatgt ggaagaattg attaacttg 180
ctttcttctg tttcttcagc cacagaattt aattttgtaa aagtaacttt tacataacgt 240
gacattgatg ataaatcacc aggcaagcca agtccacca tgccaaggct ataagtttca 300
agttctaact ctttagcaaa acgattttct gaaaccttg gagatagatg acgatagtta 360
ttcaaattga ataattgttt atcaaaagtt ggattattag tcaaaacacc tgttgagtta 420
ttcgtaaact tatagggcac gcgtggtcga cggcccgggc tggtaaagac ttcttgata 480
acggattaam agaagttttt gaagatgtac ttccgattac aaactttacg gatactatgg 540
agcttgaatt tgttggttac gaattgaaag agcctaagta tacgcttgaa gaagctcgta 600
tccacgatgc atcttattca gcacctattt ttgtaacctt ccgtttgatt aataaagaaa 660
caggagaaat caaaactcaa gaagttttct tcggtgattt cccaattatg actgaaatgg 720
gtacattcat catcaacggt ggtgaacgta ttatcgtttc tcagttgggt cgttctcctg 780
gtgtttatct caacgataaa gttgataaaa acggtaaagt tggttacggt tcaactgtaa 840
tccctaaccg tggagcatgg cttgaattag aaacagattc aaaagatatt gcttacacac 900
gtatcgaccg tacacgtaaa attccattta caactcttgt acgtgcgctt ggtttctcag 960

gtgatgatga aatcatggat atcttttggtg atagcgaact tgttcgtaac acaatcgaaa 1020
aagatattca caaaaaccca gcagactcac gtactgacga agctcttaaa gaaatttacg 1080
aacgccttcg tccaggtgaa ccaaaaacag ctgatagctc acgtagcttg cttgtagctc 1140
gtttctttga cccacgtcgt tatgacttgg cagctgttgg tcgttacaaa atcaacaaaa 1200
aacttaacat caagactcgt cttttgaacc aaacaatcgc tgaaaacttg gttgatgctg 1260
aaactggtga aatccttggt gaagctggta cagtaatgac acgtgacgtg attgattcaa 1320
tcgctgatca attggatggg gaccttaaca aatttgttta cacaccaa at gattacgctg 1380
ttgtcactga acctgttggt cttcaaaaat tcaaagttgt tgcaccaa ac gatccagacc 1440
gcgttggtac aatcgttggt aacgcaa atc ctgatgacaa agcgcgtgcg cttacaccag 1500
ctgatatctt ggcagaaatg tcttacttcc ttaaccttgc tgaaggctta ggtaaagttg 1560
atgatatcga ccaccttggg aatcgtcgta ttcgtgccgt tggatgaattg cttgctaacc 1620
aattccgtat tggctctgct cgtatggaac gtaacgttcg ggaacgtatg tcagttcaag 1680
acaacgaagt gttgacacca caacaaatca tcaacattcg tcctgttact gcagccgtta 1740
aagaattctt cggttcatct caattgtcac agttcatgga ccaacacaac ccactttctg 1800
agttgtctca caaacgtcgt ttgtcagcct taggacctgg tggtttgact cgtgaccgtg 1860
ctggttatga agttcgtgac gtgcactaca ctactatgg tcgtatgtgt ccgattgaaa 1920
ctcctgaagg acctaacatc ggtttgatca ataacttgtc aacatacggg caccttaata 1980
aatatggttt catccaaaca ccatatcgta aagttgaccg cgctacaggt gtgattacaa 2040
acgaaatcgt ttggttgact gccgatgaag aagatgaata cacagtagca caggctaact 2100
caaaacttaa cgaagatgga acatttgctg aagacatcgt tatgggacgt caccaaggta 2160
ataaccaaga gttcccagca agcgttggtg acttcgtaga cgtttcacct aaacaagtag 2220
ttgccgttgc gacagcatgt attcctttcc ttgaaaacga tgactctaac cgtgccctta 2280
tggttgccaa catgcaacgt caagcgggtc cattgattga tccacacgca ccatatggtg 2340
gtactggtat ggaatatcaa gcagcccacg actcaggtgc tgcagttatc gctaaacacg 2400
atggacgcgt tatcttctct gatgctgaaa aagttgaagt tcgtcgcgaa gatggttcac 2460
ttgatgttta ccacattact aaattccgtc gttctaactc aggtacagct tataaccaac 2520
atacacttgt taaagttggc gatatcgttg aaaaagggtga cttcatcgtc gatggtcctt 2580
caatggaaaa aggtgaaatg gcccttggtc aaaacccaat cgtcgccttac atgacktggg 2640
aagggtacaa cttcgaggat gcggttatca tgtctgaacg ccttgtgaaa gatgatgtct 2700

atacatctgt tcacttgga gaatacgaat cagaaacacg tgataactaag ttaggcctg 2760
aagaaatcac tcgcgaaatt ccaaacgttg gtgaagatgc ctttcgcaac ttggacgaaa 2820
tggggattat ccgtattggt gccgaagtta aagagggcga cattcttggt ggtaaagtca 2880
caccaaaagg tgaaaaagat ctttctgctg aagagcgtct cttgcacgca atcttcggtg 2940
acaagtcacg tgaagtacgt gatacctctc ttogtgtacc tcacggtgcc gatggtgtcg 3000
ttcgtgatgt gaaaatcttt actcgtgcc aacggtgatga attgcaatca ggtgttaaca 3060
tgttggttcg tgtttcacat cgctcaaaaa cgtaagatca aggtcggaga taagatggcc 3120
ggtcgtccac ggtaacaagg gtgtcgtttc acgtaywgta cctgttgagg atatgccata 3180
tcttcagat ggaacaccag ytgacawcat gttgaaccca ctsggggtgc catcwcgtat 3240
gaacatcgga caagttatgg agcttcacct tggatatggct gctcgtaacc ttggtattca 3300
cattgcaaca ccagtctttg atggggcaac ttctgaagac ctttgggata cagttaacga 3360
agctggtatg gctagcgacg ctaagacagt tctttacgat ggacgtactg gtgaaccatt 3420
tgataaccgt gtgtcagttg gtgtcatgta catgattaaa cttcaccaca tggttgatga 3480
taaacttcac gcacgttcag ttggtcctta ctacttggt acgcaacaac ctcttggtgg 3540
taaagcaciaa tttggtggac aacgtttcgg tgaaatggaa gtttgggctt tggaaagctta 3600
cggtgcatca aatgttcttc aagaaatctt gacttacaaa tcagatgatg tcaacggtcg 3660
tcttaaagct tatgaagcca tcactaaagg taaaccaatt ccaaaaccag gtgttcaga 3720
atcattccga gttcttgtaa aagaattgca atcacttggc cttgacatgc gcgtgcttga 3780
tgaagatgac aatgaagtag aacttcgtga tcttgatgaa ggtgaagatg acgatgttat 3840
gcacgttgat gatcttgaaa aagctcgtca aaaacaagaa gcagaagaag cggaaaaagc 3900
agaagtttct gcagaagaaa acaaataata ggaaagaaca ttcagacatg agagaggcaa 3960
gacctgcttc tcttggtcag attgtttgat tgagtcctat aacgataaat gatgtcttac 4020
gaatcatgaa tttgtaagtc atgacagtta gaaagtagcg cagctatttc aaagtcataa 4080
gaaggatca tggtgacgta atcgttacag ccggcgtc 4118

<210> 3

<211> 3425

<212> DNA

<213> Abiotrophia defectiva

<400> 3

atatagggca cgcgtggtcg acggcccggt ctggtcctaa acaacatgta acgtcactcc 60
gatgagttgg ttctgttgc ttttttttgc gcttcaaaga ccgaaaaatg tcatttgtca 120

acaattatta ataattgtaa ccttaatgta aagtgggtgtt cttagattat attatagggg 180
tgaatcgctt gagtcatatc gtgaaatacg gtaaaaaagc tgagcgtcga agctatgcgc 240
gtatcgacga agtcttagag ttgccgaact tgattgaaat ccaaacggat tcctacaaat 300
ggttcttggga tgaagggcta aaagtgatgt tcgaggacat ttcgccgatt gtcgaccatt 360
cggagaactt ggaacttcat tttgtagact atgagttcaa ggaagctaag tatagcttag 420
aagaagctcg tagccatgac gctaactact caaaaccaat ctatgtaacc ttgcgcctgt 480
tcaacaaaga gacaggtgaa gtcaaagaac aagaagtctt cttcggggac ttcccaatca 540
tgaccgaaat ggggaccttc attatcaacg gggcggaacg ggttatcggt tcccagttgg 600
tacgttctcc aggtgtctac ttccacgacc gtatggacaa gaaaggccgc cacagctata 660
cttctacgggt tattcctaac cgtggggctt gggttgaatt tgaatcagat gctaagggga 720
ttgcctacgt ccgcattgac cggacccgga agattccatt gactgtcttg atgcgtgcct 780
taggttttgg ttcagatgac gagatttatg atatcttcgg ccaatctgag ctcttagact 840
taactatcga gaaggatgtt cacaaaaaca ttcaagactc tcgtacggaa gaagccttga 900
aggacattta cgagcgtctc cgtccagggtg aacctaagac cgcagaaagc tcacgtaacc 960
tcttggttgc gcgttcttc gaccacgtc gctatgactt agcacctgta ggtcgttata 1020
agatcaataa aaagctccac ctcaagaacc gtttggttgg cttgactttg gctgaaacct 1080
tggttaaccc agaaacaggc gaagtgtctt ttgaagaagg aacggtcttg gatcaagaac 1140
gtgttcaagc cctgattcca tacttagagg ctggcttgaa taaggtaacc ctctatcctt 1200
ctgaagatag tgtggtagct caaccaattg atttaciaat catcaaagtt tattcaccta 1260
agaacgccga gcaagtgatt aacatcatcg gtaacgggaa cattgagaag attaagtgtt 1320
tgacgccagc tgacattatt gcgtcaatga actactatct ctatttagac caaggaattg 1380
gtgtgacaga tgatatcgac cacttggtta accgtcgtat tcgttcagtc ggtgaattat 1440
tgcaaaacca attccgtatc gggctatccc ggatggaacg ggtagtgcgt gaacgtatgt 1500
cgctccaaga tgttgcgacc atcacaccgc aacaattgat taacattcgt ccagtagtgg 1560
cggctattaa ggaattcttc gggtcatccc agttgtcaca attcatggac caagttaacc 1620
cactcgggga attgaccac aaacgtcgtc tgtcagcctt agggcctggg ggtttgacgc 1680
gggaccgtgc cggctatgaa gtgcgggacg ttcactactc tcactacggc cgtatgtgtc 1740
caatcgagac gccagaaggt cctaacatcg gggtgattaa cagcttgtct tcttatgcca 1800
agattaacaa gtatggtttt attgagacgc cttaccgtaa agtggacaaa tcggttacgc 1860

cacaccgtgt caccgaccgaa attgactacc tagcagcggga cgaggaagac ttgtacgtag 1920
tagcccaagc caactctaaa ctcaacgaag acgggacctt cgccaatgac ctagttatgg 1980
cgcggtttccg ttcacaaaac attgaggtta acgttgacca agtagactac atggacgtat 2040
cgccaaaaca ggttgctcgt gtcgcgactg ctagcattcc gttcttgga aacgacgact 2100
ccaaccgggg cttgatgggt gccaacatgc aacgtcaagc tgtgccactt attaatccac 2160
aatccccact gattgggact gggatggaat ataaggcagc acacgactct ggggctgcgc 2220
tcttatgtaa gcgcgccggt gaagtgggtt atgtcgatgc taacaagggtg cgcgctgcgc 2280
ctccagaagg tgaagttgac gaataccgtt taaccaagtt tgcacgttct aacgctggga 2340
cctgttacaa ccaacgtcca atcgtagaat taggcgacca agttgatgcc ttggaaatct 2400
tagcagatgg tccatctatg caaaatgggg agatggccct cgggtcaaac ccactggtag 2460
ccttcatgac ttgggaagggt tataactatg aggacgcggt tatcatgtct gaacgtctgg 2520
tcaaagacga tgtttatacc tctatccaca ttgaagaata tgaatcagag tcccgtgaya 2580
cyaagttagg ccctgaagaa attacacgcg aaattccaaa cgtgtccgaa gatgccctca 2640
agtacttaga caaagacggg attatctgta tcggggcgga agtaaaagac ggcgatatct 2700
tagttggtaa ggtaacacca aaagggtgtga ccgagttgtc tgcggaagaa cgcttgctcc 2760
atgctatctt cggtgagaag gcgcgtgaag tacgtgatac ttccttgctg gtgccacacg 2820
gcgggggccc gattgtccac gacgttaaaa tctttaccgg cgaagctggc gacgaattgg 2880
caccaggtgt caacaagcta gtccgcgtct acatcgtaaa aaaacgtaaa atcaatgaag 2940
gggataagat ggccggtcgt cacggtaaca aaggggttgt ctcccttata atgccggaag 3000
aagatatgcc attcttacca gatggtaccc cagttgatata catgttgaac ccattagggg 3060
ttccatcccg tatgaacatc gggcaagtcc tagagttaca cttgggggatg gctgctcgcg 3120
aaatgggcat caagattgca acacctgtct ttgacgggtg tagtgaagaa gatgtctggg 3180
aaacagttaa ggaagccggc ttagaagctg acgctaagac tatcttatat gatggtcgaa 3240
ccggtgaacc atttgaccgt aaagtctctg ttgggggttat gtacatgatt aagttggccc 3300
acatgggtcga tgacaagttg cagccccgtt caacaggtcc atactctctg gttacccaac 3360
aaccattggg tggtaaagct caatttggtg ggcaacgttt cggggagatg gaggtttggg 3420
cccta 3425

<210> 4

<211> 3198

<212> DNA
<213> Streptococcus mutans

<220>
<221> misc_feature
<222> (619)..(3193)
<223> n représente a, t, c, g ou i

<400> 4
ggaccctttt atgacttctt ggatacaggt ctgaaggaag tttttgaaga tgtgcttcca 60
atttccaatt tcacagacac tatggaatta gagtttgtgg gttatgagtt gaaagagcct 120
aagtatacat tggaagaagc acgtgctcat gatgcacatt attctgcccc catctttgtt 180
actttccgtc tcatcaataa agaaactggg gaaattaaga cacaagaagt attttttggg 240
gattttccct tgatgactga aatgggtact tttattatta atgggtgctga acgtattatc 300
gtttctcagt tggtagcttc accaggtggt tatttttaatg ataaagtgga taaaaatggg 360
aaaattgggt atggttcaac tgttatccct aaccgcgggtg cttggcttga gcttgaaacg 420
gactctaagg atattgctta tactcgtatt gatcgactc gtaaaattcc ttttacgacg 480
ctggttcgtg cactcggttt ttccgggggat gatgagatta ttgatatttt tgggtgatagc 540
gaattgggtc gtaataccat tgaaaaagat atccataaaa atcctaata gaatcgtaca 600
gatgaagctc tcaaggaant tatgaacgtc ttcggtccggg tgaacctaaa acggcagatt 660
cntcacgcag tcttctgatt gcacgtttct ttgatgcgcg ccgttatgat tagcagctgt 720
tggtccgctat agataataag aagttaaagc tcaaaacggg tctttgaatc aagtcattgg 780
ctgaaaanna gtagatctga aacaggcgaa attottgttg aaagctggga ctgaaatgac 840
acgcagtgtg attgattcga ttgcagatta tcttgatgga gatctcaata aaattgttta 900
tacgccaaat gaatacgtg ttttgacaga acctgttggt cttcaaaaat tcaaagttat 960
ggctccaaat gatccagacc gcacgggttac tgttattggg aatgccagtc caagatgaca 1020
aagtacgtca cttgacacca gccgatacgt attagctgaa atgtcttatt tccttaactt 1080
ggctgagggg ntaggtaaag ttgatgatat tgaccattta ggcaaccgac gtattcgtgc 1140
tggttggtgaa ttgcttgcta atcaatttcg tattgggttg gcacgtatgg aacgcaatgt 1200
tcgtgaacgc atgtccgttc aagataatga agtcttaacg ccacaacaga ttattaacat 1260
tcgccttgta acagcggcaa ttaaagagtt ttttggttct tctcaattgt cacagttcat 1320
ggaccaacac aatccactgt ctgaattgtc tcataaacgc cgtttgctcag ctttaggtcc 1380
tggtgggttta acacgcgacc gtgctgggta tgaagtccgt gatgtgcact atacgcatta 1440

tggtcgtatg tgtccaattg aaacgcctga aggaccaaatt attggattga ttaataactt 1500
gtcttcctat ggtcatctta ataaatatgg atttatccaa acaccatacc gtaaagttga 1560
ccgtgagaca ggtaaagtaa ccaatgaaat cgaatggctt actgctgatg aagaagatga 1620
attcactgta gctcaggcta actcaaaact caatgaagat ggaagctttg ctgaagaaat 1680
cgtcatggga cgtcatcaag ggaataacca agagtttcca gcaagttctg ttgaatatat 1740
ggatgtttct cctaagcagg tagttgcggt agcgacagca tgtattcctt tccttgaaaa 1800
tgatgactcc aaccgtgccc ttatgggagc taacatgcag cgccaagctg tgccattgat 1860
tgatcctaaa gcaccttttg ttggaactgg tatggaatat caagcagccc atgattctgg 1920
agccgctatt atcgctcaac ataatgggaa agtggtttat tccgatgcag ataagattga 1980
agttcgccgt gaagatggct cactagatgt ttatcatgtt accaaattcc gtcgttctaa 2040
ctctggaact gcctacaatc aacgtactct tgttagggta ggcgatagtg ttgagaaggg 2100
ggactttatt gcagatggtc cttctatgga aaaggggtgag atggctcttg gacaaaatcc 2160
agtggttgct tacatgactt gggaggggta caactttgaa gatgctgtta tcatgagcga 2220
gcgtcttgct aaggatgatg ttatacttc tgtccattta gaagaatttg aatctgaaac 2280
tcgtgataca aagcttggac ctgaagaaat tacgcgtgaa atcccaaattg ttggtgaaga 2340
tgccctgaaa gaccttgatg aaatgggaat tattcgcatt ggtgctgagg ttaaagaagg 2400
tgatattcta gttggtaaag tgactcctaa aggagaaaaa gatctttctg cagaagaacg 2460
cctcttgcat gccatTTTTG gtgacaaatc acgtgaagtt cgtgatactt ctcttcgtgt 2520
acctcatggg ggcgacggtg ttgtttgtga tgtgaaaatc ttacacgtg ctaatggaga 2580
tgaacttcaa tcagggtgta acatgctggg tcgtgtttat atcgctcaaa aacgtaaaat 2640
caaggctcga gataagatgg ccggacgtca tggtaacaag ggtgtcgttt cccgtattgt 2700
accagtggaa gatatgccat atcttcaga tggaacacct gttgatatca tgcttaatcc 2760
acttgggggtg ccatcacgga tgaacattgg gcaagttatg gaactccatc ttggtatggc 2820
tgctcgtaat ttgggcattc atattgcaac gcctgtcttt gacggagcaa cttctgatga 2880
tctttgggaa acagtaaaag aagccggtat ggattctgat gctaaaactg ttctttatga 2940
tggtcgcaca ggggagccgt ttgataatcg tgtatcagtt ggtgttatgt atatgattaa 3000
acttcaccac atggttgatg ayaaccattt tgtctatgca magwtcagtt ggcccttakt 3060
caaygawtam tcagasgart tcctgctwgg tgtaaaggct ncaattgtct ttagagggtta 3120
aggctgggtga aataacggta tgctggtatt gatggcaatg ggcaagtga tantcaaac 3180

cggccgtcta cancgtgc

3198

<210> 5

<211> 3096

<212> DNA

<213> Enterococcus faecalis

<400> 5

gacccttatac aattgggttt tagatgaggg acttcgtgaa atgtttgaag acattttacc	60
aattgatgat ttccaaggaa acttatcctt agaatttggt gactatgaat taaaagaacc	120
aaagtacaca gtagaagaag cccgcgcaca tgatgccaac tattctgcgc cattacatgt	180
aacattacgt ttaaccaacc gtgaaacagg tgaaattaaa tccaagaag tcttcttcgg	240
cgatttccca ttaatgacag aaatgggtac cttcatcatc aacggggcag aacgtgttat	300
cgtttcccaa ttagttcgtt ctccaggtgt ttacttccat ggaaaagtgg acaaaaacgg	360
caaagaaggt ttgggtcaa cagtcattcc taaccgtggt gcatggtag aaatggaaac	420
agatgcgaaa gacatttctt atgttcggat tgaccgcaca cgtaaaattc ctttaactgt	480
gtagttcgt gctttagggt tcggttcaga tgataccatc ttcgaaattt tcggcgacag	540
cgaaagctta cgcaacacaa ttgaaaaaga ttacacaaa aacgcaagtg attctcgtac	600
agaagaaggc ttgaaagaca tttatgaacg tcttcgcccc ggcgaaacaa aaacagcaga	660
tagctcacgt agcttgtaa cttgcacgtt tctttgatcc aaaacgttat gatttggcaa	720
acgttggtcg ctacaaagtt aacaaaaaat tagacttaaa aacacgtcta ttaaacttaa	780
ccttagctga aacgctagtt gatccagaaa ctgggtgtaa tcattgtcga aaaaggcaca	840
gttttaacac actacatcat ggaaacatta aggcrataca ttgacaaacg gcttaaacag	900
cgtaacttac tatccaagtg aagatgcggt agtaactgaa ccaatgacga tccaagtgat	960
tcaagttctt tcacaaaaag atcctgaacg tatcgtaaat gtgattggta acggctatcc	1020
agacgacagc gtaaaaacag ttcgtccagc agatatcggt gcttcaatga gctacttctt	1080
caacttaatg gaagatatcg gtaatgtcga tgacatcgac cacttaggta atcgctcgat	1140
ccgttcagta ggcgaaattat tacaaaacca attccgtatt ggttttagccc gtatggaacg	1200
tgtggttcgt gaaagaatgt ctattcaaga cacagaaaca ttgacaccac aacaattaat	1260
taacatccgt ccagtggtag caagtatcaa agaattcttt ggttcttcac agttatcaca	1320
gttcatggac caaacaacc cattagggtg gttaacccat aaacgtcgtc tatcagcctt	1380
agggcctggt ggtttgactc gtgatcgtgc cggttatgaa gttcgtgacg ttcactactc	1440
tcactatggt cgtatgtgtc caattgaaac gcctgaggga ccaaatatcg ggttgatcaa	1500

tagcttatct agttatgcga aagtgaataa atttggtttc atcgaaacgc cttatcgccg 1560
tgttgatcgt gcgacaggcc gtgttactga tcaagtagat tacttaacag cagacatcga 1620
agaccattat atcgtagcgc aagcgaactc actttttaa at gaagatggca catttgccaa 1680
tgatgttggt atggcgcgct tacaagtga aaacttagaa gttgccgtag acaaagttga 1740
ctacatggac gtttcaccaa aacaagtagt cgcagtcgca acagcatgta ttcctttctt 1800
agaaaacgat gactccaacc gtgccttgat ggggtgcac atgcagcgtc aagcggtgcc 1860
gttaattcaa ccacgctctc cgtgggtagg tacaggtagt gaataataat cagcccatga 1920
ctcagggtgct gctttactat gtaaactga cgggtgctga gaattcgtcg atgcaaaaga 1980
aattcgcgtt cgtcgcgaca atggcgcat agacaaatat atggttacaa aattccgtcg 2040
ttctaactca ggaacaagct acaaccaacg cccaattgtt cacttaggtg aaaagttgaa 2100
aaggcgatac tttaccggat ggaccttcta tggaagaagc gaaatggctt tatggcaaaa 2160
cgtcttaggt gccttcatga catgggaagg ttacaactac gaggatgcca ttatcatgag 2220
ccgtcgttta gttaaagacg atgtctacac ttctgtgcat attgaagaat atgaatcaga 2280
agcacgtgat acaaaattag gacctgaaga aattaccgtt gaaattccaa acgttgggga 2340
agacgcgttg aaagacttag acgaaatggg gattatccgc attgggtgctg aagttcaaga 2400
tggcgactta ctagttggga aagtcacacc taaaggggtc acagaattat ctgcagaaga 2460
acgtttatta cacgcaatct tcggggaaaa agcccgcgaa gttcgtgata cgtctctccg 2520
tgtacctcac ggtggcgggc gtatcgttca tgatgtgaaa atctttactc gtgaagctgg 2580
cgatgaatta tcaccagggtg tcaacatgtt agttcgtgtc tatatcggtc aaaaacgtaa 2640
aattcacgaa ggagataaaa tggcgggacg tcacggaaat aaaggggttg tttcccgtat 2700
tatgccggaa gaagatatgc cattcttacc tgacggaaca cctgttgata tcatgttgaa 2760
cccattaggg gtaccttctc gtatgaatat cggacaagta cttgaattac acttaggtat 2820
ggctgctcgc caattaggta ttcacgtcgc aacacctgtt ttcgatgggg caaccgatga 2880
agacgttttg gaaactgttc gtgaagctgg tatggctagc gatgctaaaa cagttcttta 2940
cgatggacgt acagggtgaac catttgataa ccgtatttcc gttggtgtca tgtatatgat 3000
taaattagcc cacatgggtg atgacaaatt gcatgctcgt tcaatcggac cttactctct 3060
tgttacgcaa caaccgttgg gtgtaaagct caattc 3096

<210> 6

<211> 20

<212> DNA
<213> amorce

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> n représente a, t, c ou g ou i

<400> 6
aarytnggmc ctgaagaaat

20

<210> 7
<211> 23
<212> DNA
<213> amorce

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> n représente i

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> n représente a, t, c ou g ou i

<400> 7
tgnartttrt catcaacat gtg

23

<210> 8
<211> 709
<212> DNA
<213> Streptococcus suis

<400> 8
cgcgaaattc caaacgttgg tgaagatgcc cttcgcaact tggacgaaat ggggattatc 60
cgtattggtg ccgaagttaa agagggcgac attcttggtg gtaaagtcac accaaaaggt 120
gaaaaagatc tttctgctga agagcgtctc ttgcacgcaa tcttcggtga caagtcacgt 180
gaagtacgtg atacctctct tcgtgtacct cacggtgccg atggtgtcgt tcgtgatgtg 240
aaaatcttta ctctgtccaa cgggtgatgaa ttgcaatcag gtgttaacat gttggttcgt 300
gtttacatcg ctcaaaaacg taagatcaag gtcggagata agatggccgg tcgtcacggt 360
aacaagggtg tcgtttcacg tattgtacct gttgaggata tgccatatct tccagatgga 420
acaccagttg acatcatgtt gaaccactc ggggtgccat cacgtatgaa catcggtcag 480
gttatggaac ttcacttggg tatggcggct cgcaacttgg gcatccatat cgcaacacca 540

gttttcgatg gtgcaagttc agaagacctc tgggtcaactg ttaaagaagc aggtatggac 600
tcagatgccca agaccattct ttacgatgga cgtacagggtg aaccatttga caaccgtgta 660
tctgttggtg tcatgtacat gatcaagctt caccacatgg ttgatgaca 709

<210> 9
<211> 725
<212> DNA
<213> *Streptococcus sanguinis*

<400> 9
tgtcatcaac catgtggtga gcttaatcat gtacatgaca ccgacagata cacggttgtc 60
aaacggctca ccggtacgtc catcgtaaag aatagtcttg gcatcgctat ccataccagc 120
ttcacggaca gtatcccaga ggtcttctga gcttgctcca tcaaagaccg gtgtcgcaat 180
atggatgcc c aagttacgtg ctgccatacc aagggtgaagc tccataacct gaccaatgtt 240
catacgtgat ggtaccccca gtgggttcag catgatatca actggtgttc cgtctggcaa 300
ataaggcatg tcttccacag gaacgatacg ggatacaacc cccttgtttc cgtgacgacc 360
agccatctta tctccgacct tgatcttacg tttttgagcg atgtagacac gaaccaacat 420
attaacgcca gattgcaact catcaccatt agcacgggta aagatcttca cgtcacgaac 480
cactccatca gcaccgtgcg gcacacgcag agaggatatca cggacttcac gagacttgtc 540
tccgaagata gcgtgcaaga ggcgctcttc agcagaaaga tctttttcac ccttaggggt 600
aactttacct acaaggatat cgccttcctt gacttccgcc ccgatgcgga taatacccat 660
ttcgtccaaa ttgcgtaggg catcttcccc tacgtttgga atttcgcggg taattcttca 720
ggtca 725

<210> 10
<211> 728
<212> DNA
<213> *Streptococcus salivarius*

<400> 10
ttgtcatcaa ccatgtgtga agtttgatca tgtacatgac accaactgat acacggttat 60
caaatgggtc acctgtacgt ccatcgtaaa ggattgtctt agcatcacta tccataacctg 120
cttcacgaac agtatcccag aggtcttctg agcttgcccc gtcaaagact ggtgttgcca 180
tgtggatacc caagttacga gcagccatac caagggtgaag ttccataacc tgaccgatgt 240
tcatacgtga tggcacccca agagggttca acatgatatc aactggtgta ccgtctggaa 300
ggtaaggcat gtcttcaaca ggaacaatac gagaacaac ccctttgtta ccgtgacgac 360

cggccatctt atctccgacc ttaatcttac gtttttgagc gatgtaaaca cgaacaagca 420
tgtaaacacc tgattgcaat tcatcacggt ttgcacgtgt gaagatttta acatcacgaa 480
cgacaccatc accaccgtga ggtacacgga gtgagggtatc acgtacttca cgagatttat 540
caccaaagat agcatggaga agacgttctt cagcagaaag gtctttttca cccttaggtg 600
ttaccttacc aacaagaatg tcaccttctt taacctcagc accgatacgg ataataccca 660
tttcgtcaag gtctttgaga gcttcttcac caacgtttgg caattcacgt gtaatttctt 720
caggtcca 728

<210> 11
<211> 725
<212> DNA
<213> Streptococcus pyogenes

<400> 11
tgtcatcaac catgtggtga agtttgatca tatacatgac accaacggat acacggttgt 60
caaagtgttc accggtgcga ccatcataaa ggaccgtctt agcatcgcta tccataccag 120
cttcacgaac agtgtccaa aggtcttctg atgaagcccc gtcaaagaca ggtgttgcaa 180
tgtgaatacc aagattacga gcagccatac caagggtgaag ttccataacc tgaccaatat 240
tcatccgtga tggcacccca agaggggttc acatgatgtc aactgggtgt cgtctggaa 300
ggtatggcat gtcttcaact ggtacaatac gtgaaacgac acccttgttt ccgtgacgac 360
cggccatctt atctccgacc ttgattttac gtttttgagc gatgtaaaca cgcacaagca 420
tattaacacc tgattgcaat tcatcgccgt tagcgcggtgt aaagattttc acatcacgaa 480
cgataccatc accaccgtga gggacacgaa gtgagggtatc acgcacttca cgcgatttat 540
ccccaaagat ggcgtgaagt aaacgttctt cagcagaaag gtctttttca ccttttaggtg 600
tgactttacc tactaagatg tcgccttctt taacctcagc accgatacgg ataatgccca 660
tttcgtcaag gtctttgagg gcttcttcac caacatttgg gatttccgag tgattcttca 720
gggca 725

<210> 12
<211> 724
<212> DNA
<213> Streptococcus pneumoniae

<400> 12
caaccatgtg gtggagtttg atcatgtaca tgactccgac agaaaacacg gttatcaaac 60
ggttcaccag tacgtccatc gtaaaggatc gttttggcat cgctatccat acctgcttct 120

ttaacagttg accaaagatc ttcagaactt gctccatcaa agactgggtg cgcgatgtga 180
ataccaagag tacgagctgc cataccaagg tgaagctcca taacctgacc gatattcata 240
cgtgatggta cccaagtgg gttcaacatg atgtcgactg gagttccgtc tggaaggtaa 300
ggcatgtctt ctacaggaac gatacgagag acaaccctt tgtttccgtg acgtccggcc 360
attttatctc cgaccttaat cttacgtttt tgagcgatgt aaacacgaac caacatgtta 420
acacctgatt gcaactcatc tccatttaca cgtgtaaaga tcttaacatc acgaacgaca 480
ccatcggcac cgtgtggtac acgaagagaa gtatcacgca cttcacgaga cttgtctcca 540
aagatagcgt gcaagagacg ttcttcagct gaaagatctt tctcaccctt aggtgttact 600
ttacctacaa gaatatcacc ttctttaacc tcagcaccaa tacggataat cccatttcgt 660
caagggtctt gagggcatct tcaccaacgt tttggaattt cgcgagtgat ttcttcagggt 720
ccaa 724

<210> 13

<211> 694

<212> DNA

<213> Streptococcus oralis

<400> 13

actcgtgaaa ttccaaacgt tgggtgaagat gcccttaaag accttgacga aatgggtatt 60
atccgtattg gtgctgaggt taaagaagga gatatccttg taggtaaagt cacacctaag 120
ggtgaaaaag acctttctgc tgaagaacgt ctcttgacg ctatcttcgg agacaagtct 180
cgtgaagtgc gtgatacttc tcttcgagta cctcacgggtg ccgatgggtg cgttcgtgat 240
gttaagatct ttacacgtgc aaatgggtgat gagttgcaat ctgggtgtgaa tatgctggtt 300
cgtgtctaca tcgctcaaaa acgtaagatc aagtcggaga taagatggcc ggacgtcacg 360
gaaacaaagg ggttgtctct cgtatcgttc ctgtagaaga catgccttac cttccagatg 420
gaactccagt cgatatcatg ttgaaccac ttgggggtgcc atcacgtatg aatatcggtc 480
aggttatgga actccacctt ggtatggcag cccgtactct tggtatccac atcgcaacac 540
cagtctttga cggagcaagt tcggaagacc tttgggacac tgttaaagaa gcaggtatgg 600
atagcgatgc caaaacaatc ctttacgatg gacgtacagg tgagccgttt gacaaccgtg 660
tatcagttgg tgtcatgtac atgatcaaac tcca 694

<210> 14

<211> 728

<212> DNA

<213> Streptococcus mutans

<400> 14
tgtcatcaac catgtggtga agtttaataca tatacataac accaactgat acacgattat 60
caaacggctc cctgtgcga ccatcataaa gaacagtttt agcatcagaa tccataccgg 120
cttcttttac tgtttccaa agatcatcag aagttgctcc gtcaaagaca ggcgttgcaa 180
tatgaatgcc caaattacga gcagccatac caagatggag ttccataact tgcccaatgt 240
tcatccgtga tggcacccca agtggattaa gcatgatatac aacagggtgtt ccatctggaa 300
gatatggcat atcttccact ggtacaatac gggaaacgac acccttggtta ccatgacgtc 360
cggccatctt atctccgacc ttgattttac gtttttgagc gatataaaca cgaaccagca 420
tggttaacacc tgattgaagt tcatctccat tagcacgtgt aaagattttc acatcacaaa 480
caacaccgtc gccaccatga ggtacacgaa gagaagtatac acgaacttca cgtgatttgt 540
caccaaaaat ggcattgcaag aggcgttctt ctgcagaaag atctttttct cctttaggag 600
tcactttacc aactagaata tcaccttctt taacctcagc accaatgcga ataattccca 660
tttcatcaag gtctttcagg gcatcttcac caacatttgg gatttcacgc gtaatttctt 720
caggtcca 728

<210> 15
<211> 730
<212> DNA
<213> Streptococcus mitis

<400> 15
tgtcatcaac catgtggtgg agtttgatca tgtaacatga ctccgacaga aaacacgggtt 60
atcaaattggt tcacctgtac gtccatcgta aaggattgtt ttggcatcgc tatccatacc 120
agcttcttta acagttgacc aaagatcttc agaacttgct ccgtcaaaga ctgggtgttgc 180
gatgtgaata ccaagagtac gagctgccat cccaagggtgg agttccataa cctgaccgat 240
attcatacgt gatggcacc caagtgggtt caacatgata tcgactggag ttccatctgg 300
aaggtaaggc atatcttcta caggaacgat acgagagaca acccctttat ttccgtgacg 360
tccggccatc ttatctccga ccttgatctt acgtttttga gcgatgtaga cgcgaaccag 420
catgttgaca cctgattgca attcatctcc atttgacagt gtaaagatct taacatcacg 480
aaccacacca tcagctccgt gtggtacacg aagagaagtg tcacgtactt cacgagattt 540
atctccgaag atagcgtgca agagccgttc ttcagctgaa aggtctttct cacccttagg 600
tgttacttta cctacaagga tatccccttc tttaacctca gcaccgatac ggataatacc 660
catttcgtca agatctttaa gggcatcttc cccaacgttt gggatttcac gagtaatttc 720

ttcaggtcca 730

<210> 16
<211> 697
<212> DNA
<213> Streptococcus equinus

<400> 16
cactcgcgaa attccaaacg ttggtgaaga agctcttaaa gaccttgacg aaatgggtat 60
tatccgtatc ggtgctgaag ttaaagaagg tgacatcctt gtaggtaaag taacacctaa 120
aggtgaaaaa gacctttctg ctgaagagcg ccttcttcac gcaatcttcg gtgataaatc 180
acgtgaagtt cgtgatacat cacttcgtgt accacacggt ggagatgggtg tcgttcgtga 240
cgttaaaatc ttacacgtg caaacggtga tgaattacaa tcaggtgtta acatgctcgt 300
tcgtgtttat atcgacacaa aacgtaaaat caaagtcgga gataaaatgg cgggtcgtca 360
cggtaacaaa ggggttggtt ctggtgttgt tccagttgaa gacatgcctt atcttcaga 420
cggaactcca gtcgatataca tgttgaaccc acttgggggtg ccatctcgta tgaacatcgg 480
acaagttatg gagcttcacc ttggtatggc tgctcgtaac cttggtattc acattgcaac 540
accagtcttt gatggggcaa cttctgaaga cctttgggat acagttaacg aagctgggtat 600
ggctagcgac gctaagacag ttctttacga tggacgtact ggtgaaccat ttgataaccg 660
tgtgtcagtt ggtgtcatgt acatgattaa acttcac 697

<210> 17
<211> 731
<212> DNA
<213> Streptococcus constellatus

<400> 17
agttgtcatc aaccatgtgt gcaatttaat catatacatg acaccgacag atacacggtt 60
gtcaaacggc tcgcccgtac gaccatcata aagaatcgtc ttggcatcgc tatccatgcc 120
tgcttcacga acagtatccc aaaggatcatc tgagcttgct cgtcaaata ctggcggtgc 180
tatgtggata ccaagggtgc gagcagecat accaagggtga agctccataa cctgtccgat 240
attcatatcgt gatggcaccc caagtgggtt caacatgatg tctactgggtg ttccgtctgg 300
aagataaggc atatcctcaa ctggaacgat acgggaaaca acccctttat ttccgtggcg 360
tccggccatc ttatcccaa cgcggatctt tcgtttttga gcaatgtaaa cagcaccaa 420
catgttgaca ccagattgca attcatcacc gttcgcacga gtaaagattt tcacatcacg 480
gacaacccca gcaccacat gtggtacacg aagagatgtg tcacgtactt cagagattt 540

atcaccgaaa attgcatgaa gcaggcggttc ttcagcggat aagtcttttt cacctttcgg 600
cgttacttta ccgacaagaa tgtcgccctc tttcacctca gcaccaatgc ggataattcc 660
catttcgtca aggtctctta gcgcatcttc cccaacgttt ggaatttcgc gcgtaatttc 720
ttcaggtcca a 731

<210> 18

<211> 697

<212> DNA

<213> *Streptococcus anginosus*

<400> 18

cacgcgcgaa attccaaacg tcggtgaaga tgctttgaga gaccttgacg aaacgggaat 60
tatccgcatt ggtgctgagg taaaagaagg cgacattctt gtcggtaaag taacaccgaa 120
aggtgaaaaa gacttatctg ctgaagaacg cctgcttcat gcaattttcg gtgataaatc 180
tcgtgaagta cgtgatactt cccttcgtgt accacatggt ggtgcagggg ttgtccgtga 240
tgtgaaaatc tttactcgtg cgaacggtga tgaattgcaa tctggtgtca acatgttggt 300
acgtgtttac atcgctcaaa aacggaaaat ccgtgttggg gataagatgg ctggacgtca 360
cggaacaaaa ggggttggtt cccgcattgt tccagttgag gatatgccgt atcttcaga 420
tggaacacca gttgatatta tggtgaacc acttggggtg ccatctcgta tgaatattgg 480
tcaagttatg gagcttcacc tcggtatggc tgctcgcaac cttggcattc acattgcaac 540
accagtattt gacggggcta gctcagatga tctttgggaa accgttcgtg aagctggcat 600
ggatagcgat gctaagacaa tcctttatga tggccgtact ggtgagccat ttgataatcg 660
tgtatccgtt ggtgtcatgt acatgatcaa actccac 697

<210> 19

<211> 728

<212> DNA

<213> *Streptococcus dysgalactiae*

<400> 19

tgtcatcaac catgtggtgg agtttaataca tgtacatgac accaacggat acacggttgt 60
caaatggttc gccagtacgt ccatcataaa ggaccgtctt agcatcgcta tccataaccag 120
cttcacgaac agtgtcccaa aggtcttctg atgaagcccc gtcaaagaca ggtgttgcaa 180
tgtgaatacc aagattacga gcagccatac caaggtgaag ttccataacc tgaccaatgt 240
tcatccgtga tggcacccca agaggggttca acatgatgtc aactggtgtt ccatctggaa 300
ggtatggcat gtcttcaact ggtacaatac gtgaaacgac acccttggtt ccgtgacgac 360

cagccatttt atctccgact ttgatcttac gtttttgagc aatgtaaaca cgcacaagca 420
 tattaacacc tgattgcaat tcatcgccgt tagcgcgtgt aaagattttc acatcacgaa 480
 cgataccatc accaccgtga ggtacacgaa gggacgtatc acgaacttca cgtgatttat 540
 ctccaaagat ggcatgcaag agacgctctt cagcagaaag gtcttttttca ccttttaggtg 600
 tgactttacc tactaagatg tcgccttctt taacctcagc accgatacgg ataattccca 660
 tttcgtcaag gtctttgagc gcttcttcac caacgtttgg aatttcgcgg gtgatttctt 720
 caggtcaa 728

<210> 20
 <211> 728
 <212> DNA
 <213> Streptococcus bovis

<400> 20
 tgtcatcaac catgtggtga agtttgatca tgtacatgat accaacagag acacgattat 60
 caaatgggtc acctgtacga ccgtcataaa gaactgtctt agcgtcgcta tccataccag 120
 cttcacgaac agtatcccaa aggtcttctg aagttgcccc gtcaaagact ggagttgcaa 180
 tgtgaatacc gaggttacga gctgccatac caaggtgaag ttccataact tgtccgatat 240
 tcatacgaga tggcacccca agaggggttca acatgatatc aactggagtt ccgtctggaa 300
 gatatggcat gtcttcaaca ggaacgatac gagaaacaac ccctttgttt ccgtgacgac 360
 cggccatttt atctccgact ttgattttac gtttttgtagc aatgtaaaca cgaacgagca 420
 tgttgacacc tgattgcaat tcatcacggt tagcacgtgt gaagatttta acatcacgaa 480
 caacaccgtc tccaccgtgt ggcacacgaa gtgatgtatc acgtacttca cgagatttat 540
 caccgaagat tgctggaaga aggcgttctt cagcagaaag gtcttttttca ccttttaggtg 600
 ttactttacc tacaaggata tcaccttctt taacttcagc accgatacgg ataataccca 660
 tttcgtcaag gtctttaaga gcttcttcac caacgtttgg aatttcgcga gtgatttctt 720
 caggtcaa 728

<210> 21
 <211> 728
 <212> DNA
 <213> Streptococcus acidominimus

<400> 21
 ttgtcatcaa ccatgtggtg gagcttaatc atgtacatga caccaacaga cacacgggta 60
 tcaaattggtt caccagtacg accatcataa agaatcgttt tagcatcgct gtccattcct 120

gcctctttaa cagttgacca gagatcctct gagctcgac catcgaaaac cgggtgttgcg 180
atatggatac ccaagttacg agcagccata cccaagtga gttccataac ctgaccaata 240
ttcatacgag atggcaccac aagtgggttc aacatgatgt caactgggtgt tccatctgga 300
agatatggca tgtcttcaac tgggtacaata cgagaaacga cacccttggt accgtgacga 360
ccggccatct tatctccgac cttaatcttg cgtttttgag cgatatacac acgtaccagc 420
atattaacac cagactgtag ctcatcacca ttagcacgcg taaagatttt cacatcacga 480
acaacaccat ctgcaccgtg tggcacacgt agagaggtat cacgtacttc acgtgatttg 540
tcaccgaaga tagcatgcaa gagacgctcc tcagcagaaa gatctttttc accttttggt 600
gtcaccttac caacaagaat atcgcttct ttaacttctg caccgatagc gataataccc 660
atttcgtcaa ggtctttgag ggcttcttca ccaacgtttg gaatttcacg agtaatttct 720
tcagggtca 728

<210> 22

<211> 733

<212> DNA

<213> Streptococcus agalactiae

<400> 22

tgagttgtca tcaaccatgt ggtgaagttt gatcatgtac atgacaccaa ctgacacacg 60
gttatcgaat gggtcaccag tacgaccatc ataaagaaca gtcttagcat ctgaatccat 120
acctgcttct tgaacagttt cccaaaggtc ttctgaagaa gccccatcaa agactggcgt 180
tgcaatatga atacctaaat tacgagcagc catacctaaa tgaagctoca taacttgtcc 240
gatattcata cgtgatggca cccaagtgg gttcaacatg atatcaactg gcgttccatc 300
tggttaagtaa ggcatatctt caacaggaac aatacgtgag acgacacctt tgtttccgtg 360
acgaccggcc atcttatcac cgactttgat ttacgtttt tgagcgatat aaacgcggac 420
aagcatatta acacctgatt gcaattcatc accatttgca cgagtaaaga ttttaacgtc 480
acgaactact ccatcgccac cgtgaggtag acgtagtga gtatcacgaa cttcacgtga 540
tttatcacca aaaatggcat gcaagagacg ttcttcagca gataagtcct tttcaccctt 600
aggtgttacc ttaccaacaa gaatgtcacc ttcttttacc tcagcaccaa tgccgataat 660
tcccatttca tcgagatcac gtagtgaatc ttcaccaaca ttttggtatt cagagtaat 720
ttcttcaggt cca 733

<210> 23

<211> 714
<212> DNA
<213> *Streptococcus difficilis*

<400> 23
ttgtcatcaa ccatgtggtg aagtttgatc atgtacatga caccaactga cacacgggta 60
tcgaatgggt caccagtatg accatcataa agaacagtct tagcatctga atccatacct 120
gcttcttgaa cagtttccca aaggctttct gaagaagccc catcaaagac tggcggttgca 180
atatgaatac ctaaattacg agcagccata cctaaatgaa gctccataac ttgtccgata 240
ttcatacgtg atggcacccc aagtgggttc aacatgatat caactggcgt tccatctgggt 300
aaataaggca tatcttcaac aggaacaata cgtgagacga cacctttggt tccgtgacga 360
ccggccatct tatcaccgac ttgtatttta cgtttttgag cgatataaac gcggacaagc 420
atattaacac ctgattgcaa ttcatacaca ttgtcacgag taaagatttt aacgtcacga 480
actactccat cgccaccgtg aggtacacgt agtgaagtat cacgaacttc acgtgattta 540
tcaccaaaaa tggcatgcaa gagacgttct tcagcagata agtccttttc acccttaggc 600
gttaccttac caacaagaat gtcaccttct ttacctcag caccaatgcg gataattccc 660
atttcatcga gatcacgtag tgaatcttca ccaacatttg gaatttcacg agta 714

<210> 24
<211> 728
<212> DNA
<213> *Streptococcus intermedius*

<400> 24
tgtcatcaac catgtggtga agcttaatca tgtacatgac accaacggac acacgggttat 60
caaacgggtc gccagtacgt ccatcataaa ggattgtctt agcatcgcta tccatacctg 120
cttcacgaac ggtttcccaa agatcatctg agctagctcc gtcaaagact ggcgttgcaa 180
tgtggatacc aagggtgcga gcagccatac cgagggtgcaa ttccataact tgtccgatat 240
tcatacgtga cggcacccca agaggattca acatgatata aactgggtgtc ccgtctggaa 300
gatacggcat atcctcaact ggaacaatgc gggaaacaac ccctttgttt ccgtggcgctc 360
cggccatctt atctccaacg cggattttcc gtttttgagc gatataaaca cgtaccaaca 420
tgttgacacc ggattgcaat tcataccgt tcgcacgagt aaagattttt acatcacgga 480
caacacctgc accaccgtgt ggtacacgaa gggaggtatc acgcacttca cgagacttat 540
caccaaaaat tgcatgaagc aggcgttctt cagcggataa atctttttca ctttcggcg 600
ttactttaco gacaagaatg tcgccttctt ttacctcagc accaatgcgg ataattccca 660

tctcgtcaag gtctctcaaa gcatcttccc cgacgtttgg aatttcgcgc gtgatttctt 720
caggtcca 728

<210> 25
<211> 728
<212> DNA
<213> Streptotoccus equi

<400> 25
tgtcatcaac catgtggtga agcttaatca tatacatgac accaactgac acacgattat 60
caaacggctc accagtacgg ccatcataaa gaacagtctt agcatcgcta tccatacctg 120
cttcacgaac agtttcccaa aggtcctcag acgtagctcc gtcaaagacc ggtgttgcca 180
tatggatacc caaattacga gcagccatac ctaggtgaag ctccataacc tgtccaatgt 240
tcatacgaga cggcacccca agaggggttca gcatgatgtc aacaggggtt ccgtctggca 300
gatatggcat atcctcaacc ggtacaatac gtgagacgac acccttggtta ccatgacgcc 360
cggccatttt atctccgacc ttgattttac gcttttgagc aatgtaaaca cgcaccagca 420
tattaacacc tgattgaagc tcatcaccat ttgcgcgtgt aaagatcttc acatcacgta 480
caatcccgtc accaccatga ggaacacgta acgaggtatc acgaacctca cgtgatttat 540
caccaaagat agcatgcagg agacgttctt cagcagaaag gtctttttca cccttaggag 600
ttaccttacc aacaagaata tcgccttcct tgacctctgc accgatacgg ataataccca 660
tttcatcaag gtccttgagg gcttcttcac caacgtttgg cacttcacgt gtgatttctt 720
caggtcca 728

<210> 26
<211> 697
<212> DNA
<213> Enterococcus gallinarum

<400> 26
cactcgtgaa atcccgaatg tcggggaaga cgcattgaaa gatctagacg aaatgggtat 60
catccgcatt ggtgcggaag tcaaagatgg cgatctgttg gttggtaaag taacgcctaa 120
aggggtaacg gaactatctg cagaagaacg cttgcttcat gcaatctttg gtgaaaaagc 180
ccgcgaagtc cgcgatactt ctctgcgcgt acctcacggt ggtggcggaa tcgtccatga 240
tgtgaaaatc ttaccgcg aagctggcga tgaattgtca ccaggtgtca atatgctcgt 300
tcgcgtgtat atcgttcaaa aacggaaaat ccatgaaggg gataaaatgg ccggccgtca 360
cggaaataaa ggggtcgttt ctgcgattat gccagaagaa gacatgcctt tcttaccaga 420

cggtacacca gttgatatca tgttgaaccc attaggggtg ccttcacgga tgaacattgg 480
acaagtattg gaattacact taggaatggc tgcccgccaa ttaggaatcc acgtggctac 540
accagtcttt gatggtgcca gcgatgaaga tgtctgggca acagttgcag aagccggcat 600
ggctagcgac gccaaaaccg ttttgtatga tggccgtact ggagaacat ttgatggtcg 660
aatctccgta ggtgtcatgt atatgatcaa attggcc 697

<210> 27

<211> 727

<212> DNA

<213> *Enterococcus casseliflavus*

<400> 27

tgtcatcaac catgtgggcc aatttgatca tgtacatgac accaacggag atgcgggccat 60
caaatgggtc gccggtacgt ccgtcgtaaa gcaactgtttt ggcatcgctg gccattcctg 120
cttcagcaac cgttgcccaa acatcttcat cgctggctcc atcaaagact ggtgttgcca 180
cgtgaatgcc taattgacgc gcagccattc ctaagtgtaa ctctaatact tgtccaatgt 240
tcatccgaga aggtaccctt aatgggttca gcatgatatc gactgggtgtg ccactctggt 300
agaaaggcat gtcttcttct ggcataatgc gagaaacgac ccctttgttt ccgtgacgtc 360
cggccatttt atccccttca tggattttcc gtttttgaac gatataaacg cgaaccagca 420
tgttcacacc tggtgacaat tcatcgccag cttcgcgggt aaagattttg acatcggtga 480
cgattccgcc gccgccgtga ggcacgcgta gagaagtgtc acgcacttcg cgggcttttt 540
caccaaagat tgcgtgcaac aaacgctctt ctgctgaaag ttccgttacc ccttttggcg 600
tgactttccc aacaagcaga tcgccatctt tgacttccgc accaatgcgg ataatgcccc 660
tttcgtctag gtctttcaac gcgtcttccc aacgttcggg atttcgcgag tgatttcttc 720
aggtcca 727

<210> 28

<211> 721

<212> DNA

<213> *Enterococcus saccharolyticus*

<400> 28

tgtcatcaac catgtgggca agtttaatca tgtacattac cccaacagag atacgaccat 60
cgaatgggtc acccgtagct ccgtcataaa gaacagtttt cgcacgcgcg gccatgcccg 120
cttcgcgaac tgtttcccat acgtcatcat ctgatgcacc atcaaatact ggtgtagcta 180
catggatgcc taactgacgt gcagccatcc ctaagtgtaa ttccaatact tgtccgatgt 240

tcatacgaga tgggtactcct agtgggttca acatgatatc aactgggtgtg ccgtctggta 300
agaatggcat gtcttcttct ggcataatgc gagagacaac ccctttgtta ccatgacgtc 360
ccgccatttt atctccttcg tgaatcttac gtttttgcac gatataaaca cgaactaaca 420
tgttcacacc tggagataat tcgtcgctg cttcacgggt aaagatttta acatcgtgaa 480
cgataccgcc accgccgtga ggaacacgta atgatgtatc acgtacttca cgtgcttttt 540
caccgaagat tgcgtgcaat agacgttctt ctgcagataa ttcggttacc cctttaggag 600
tgactttacc tactaataag tcgccatctt gtacttcggc accgatacgg ataataccca 660
tttcgtctaa gtcttttaat gcgtcttccc caacgttagg aatttcgctg gtattcttca 720
g 721

<210> 29
<211> 727
<212> DNA
<213> Enterococcus faecium

<400> 29
tgtcatcaac catgtgagca agtttgatca tgtacatcac accgacagac acacgtccat 60
caaatgggtc acctgtacgt ccgtcgtaca gaacagtttt cgcacgctg gccataccgg 120
cttcacgaac tgtttcccat acgtcttcat cacttgcacc atcaaatact ggcggttgcta 180
cgtggatacc taactgacgt gcagccatac ccaagtgtaa ttccaatact tgcccgatgt 240
tcatacgtga aggcacccct aaaggattca gcatgatatc gattgggtgtt ccatcaggta 300
ggaatggcat atcttcttcc ggcataatac gggataacaac ccctttatth ccgtgacgac 360
cggccatttt atccccctca tggattttac gtttttgaac gatataaaca cgaactaaca 420
tgtttacgcc tggtgacaat tcactctccag cttcacgagt aaagattttc acatcgtgaa 480
cgataccgcc gccgccatgt ggtacacgta atgatgtatc gcggacttca cgagcttttt 540
cgccaaagat cgcacgcaat agacgttctt ctgcagataa ttctggttacc ccttttggcg 600
tgactttccc tacaagcaaa tcgccatctt ggacttctgc accaatacgg atgataccca 660
tttcgtctaa atcttttaat gcgtcttccc gacattaggg atttcgctg tgatttcttc 720
aggtcca 727

<210> 30
<211> 725
<212> DNA
<213> Enterococcus faecalis

<400> 30

tgtcatcaac catgtgggct aatttaatca tatacatgac accaacggaa atacggttat 60
caaatgggtc acctgtacgt ccatcgtaaa gaactgtttt agcatcgcta gccataccag 120
cttcacgaac agtttcccaa acgtcttcat cggttgcccc atcgaaaaca ggtgttgcca 180
cgtgaatacc taattggcga gcagccatac ctaagtgtaa ttcaagtact tgtccgatat 240
tcatacgaga aggtacccct aatgggttca acatgatatc aacagggtgtt ccgtcaggta 300
agaatggcat atcttcttcc ggcataatac gggaaacaac ccctttattt ccgtgacgtc 360
ccgccatttt atctccttcg tgaattttac gtttttgaac gatatagaca cgaactaaca 420
tgttgacacc tgggtgataat tcatcgccag cttcacgagt aaagattttc acatcatgaa 480
cgataccgcc gccaccgtga ggtacacgga gagacgtatc acgaacttcg cgggcttttt 540
ccccgaagat tgctgtgaat aaacgttctt ctgcagataa ttctgtgacc cctttagggtg 600
tgactttccc aactagtaag tcgccatctt gaacttcagc accaatgcgg ataatcccca 660
tttcgtctaa gtctttcaac gcgtcttccc aacgtttgga atttcacggg tatttcttca 720
ggtca 725

<210> 31
<211> 570
<212> DNA
<213> Enterococcus avium

<400> 31
gtccatcata aagaacggtc ttagcatctg ctgccatacg agcttcacga actgtttccc 60
aaacatcgct atcttgccga ccatcgaaga ctgggtgtcg aacatggata cctagttggc 120
gagccgccat tcccaagtgt aattccaaca cttgtccgat gttcatccga gatggcacac 180
ctaattgggtt caacatgata tcaactggcg taccgtctgg taagaaaggc atgtcttctt 240
ctggcataat gcgagaaacg acccctttat ttccgtgacg gccggccatt ttatccccctt 300
catgaatctt acgtttttgc acgatgtaca cgcgactaa catatttaca cctggagata 360
attcatcgcc tgcttcacga gtaaagatct tcacatcgtg aacgatcccg ccgccaccat 420
gcggtacacg aagagatgta tcacgaactt cagagcctt ttcaccaaag atcgcatgca 480
acaaacgttc ttcagctgat aattctgtta cccctttagg agtgacttta ccaactaata 540
aatcaccatc atgaacttca gcaccaatac 570

<210> 32
<211> 732
<212> DNA
<213> Abiotrophia defectiva

<400> 32

gaagttgtca tcaaccatgt gggccaactt aatcatgtac ataaccccaa cagagacttt 60
acggtcaa at gggttcacgg ttcgaccatc atataagata gtcttagcgt cagcttctaa 120
gccggcttcc ttaactgttt cccagacatc ttcttacta gcaccgtcaa agacagggtgt 180
tgcaatcttg atgcccattt cgcgagcagc catccccaag tgtaactcta ggacttgccc 240
gatgttcata cgggatggaa cccctaattg gttcaacatg atatcaactg ggggtaccatc 300
tggttaagaat ggcatatctt cttccggcat gataaggag acaaccctt tgttaccgtg 360
acgaccggcc atcttatccc cttcattgat ttacgtttt tgtacgatgt agacggggac 420
tagcttggtg acacctgggtg ccaattcgtc gccagcttcg cgggtaaaga ttttaacgtc 480
gtggacaatc ccgccccgc cgtgtggcac acgcaaggaa gtatcacgta cttcacgcgc 540
cttctcaccg aagatagcat ggagcaagcg ttcttcgca gacaactcgg tcacaccttt 600
tggtgttacc ttaccaacta agatatcgcc gtcttttact tccgccccga tacagataat 660
cccgctcttg tctaagtact tgagggcatc ttcgacacg tttggaattt cgcgtgtaat 720
ttcttcaggt ca 732

<210> 33

<211> 727

<212> DNA

<213> *Gemella morbilorum*

<400> 33

tgatcatcaac catgtgtgca agtttatcat gtacattacc cctacagata cacggctatc 60
aaatgggtca cctgtacgtc cgtcataaag aactgtctta gcatcttttag ccattccagc 120
ttccgcaact gtagacaaa catcttcac agtagacca tcgaatactg gtgtagctac 180
gtggattcca agttgttttag cagccatacc taagtgtagc tctaatactt gtccaatgtt 240
catacgagat ggaaccccaa gtgggtttta cattacgtca actggtgtac catctggtag 300
gtaaggcata tcttcttctg gtaagatatt tgagataacc cctttgttac cgtgacgacc 360
ggccatttta tctcctacac gaattttacg tttttggacg ataaatacac gaacaagttc 420
atttacaccg ttaggttaatt cagcaccatc ttacgttta aagattttta catcagcaac 480
tactccatca gcaccgtgag gtacacgtaa tgaagtatca cgtacttctt tagatttagc 540
tccaaagata gcatataata atttttcttc tggagtttgt tcagttaatc ctttcgggtg 600
aactttacct actaaaatat ctccatcttt aacttcagcc ccaatacgaa tgattcctcg 660
tgcatctaag tttctaagtg cattttcacc ctacgtttgg aatctcacga gtaatttctt 720

caggtca

727

<210> 34

<211> 726

<212> DNA

<213> *Gemella haemolysans*

<400> 34

tgtcatcaac catgtgtgca agtttaatca tgtacattac ccctacagat acacggctat 60
caaatggctc acctgtacgt ccgtcataaa gaactgtctt agcatcttta gccattccag 120
cttccgcaac tgtagaccaa acatcttcat cagtagcacc atcgaatact ggtgtagcta 180
cgtggattcc aagttgttta gcagccatac ctaagtgtag ctctaatact tgtccaatgt 240
tcatacgaga tggaacccca agtgggttta acattacgtc aactgggtgta ccatctggta 300
ggtaaggcat atcttcttct ggtaagatat ttgagataac ccctttgtta ccgtgacgac 360
cggccatttt atctcctaca cgaattttac gtttttggac gataaatata cgaacaagtt 420
catttacacc gttaggtaat tcagcaccat cttcacgttt aaagatttta acatcagcaa 480
ctactccatc agcacctga ggtacacgta atgaagtatc acgtacttct ttagatttag 540
ctccaaagat agcatataat aatttttctt ctggagtttg ttcagttaat cctttcggtg 600
taactttacc tactaaaata tctccatctt taacttcagc cccaatacga atgattcctc 660
gtgcatctaa gtttctaagt geattttcac ctacgtttgg aatctcacga gtattcttca 720
ggtcca 726

<210> 35

<211> 719

<212> DNA

<213> *Granulicatella adjacens*

<400> 35

catcaaccat gtgagcaagt ttgatcatgt acataacccc tactgacaca cggttatcga 60
atggttcccc tgtacgtcca tcatatagaa ttgttttcgc atcacgagcc ataccgctt 120
ctgcaacagt tccccatacg tcttcatctt gcgcaccatc gaatactggg gttgogatgt 180
aaatacctaa ttcacgagca gccatcccta agtgtaactc taacacttgt ccgatgttca 240
tacgtgaagg taccocctaat gggtttaaca tgatgtcaac tgggtgtcca tctggtaaga 300
atggcatatc ttcttcoggc ataatacggg aaacaacccc tttattaccg tgacgtccgg 360
ccatcttata cccttcattg attttacgtt tttgtacaat atatacacga actaatttgt 420
ttacgccagg tgctaati tcaacctgctg cacgtgtgaa tacacgtaca tcacggacaa 480

taccgccacc gccgtgaggt acacgtagag atgtgtcacg aacttcacga gctttttcac 540
cgaagattgc gtgtaataaa cgttcctctg gtgattgttc tgttaaccct ttaggagtta 600
ctttaccaac taagatgtca ccattcttaa cttcggcacc gatacgaata attccgtctg 660
cgtctaggtt cttcaatgcg tcttcccaac gtttggaatc tcacgagtaa ttcttcagg 719

<210> 36
<211> 21
<212> DNA
<213> amorce

<400> 36
agacggacct tctatggaaa a 21

<210> 37
<211> 20
<212> DNA
<213> amorce

<400> 37
ggacacatac gaccatagtg 20

<210> 38
<211> 21
<212> DNA
<213> amorce

<400> 38
gttgtaacct tcccawgtca t 21

<210> 39
<211> 20
<212> DNA
<213> amorce

<400> 39
gtcttcwtgg gygatttccc 20

<210> 40
<211> 21
<212> DNA
<213> amorce

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> n représente i.

<400> 40

accgtggngc wtggttrgaa t

21

<210> 41
<211> 20
<212> DNA
<213> amorce

<400> 41
aaccaattcc gyatyggtyt

20

<210> 42
<211> 20
<212> DNA
<213> amorce

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> n représente i

<400> 42
agnggggttta acatgatgtc

20

<210> 43
<211> 20
<212> DNA
<213> amorce

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> n représente i

<400> 43
agngcccaaa cctccatctc

20

<210> 44
<211> 21
<212> DNA
<213> amorce

<400> 44
ctccaagtga acagatgtgt a

21

<210> 45
<211> 26
<212> DNA
<213> amorce

<400> 45
ttaccaaact taattgagat tcaaac

26

<210> 46
<211> 22
<212> DNA
<213> amorce

<400> 46
agtattttatg ggtgatttcc ca

22

<210> 47
<211> 26
<212> DNA
<213> amorce

<400> 47
ggacggttata aaatcaacaa aaaatt

26

<210> 48
<211> 23
<212> DNA
<213> amorce

<400> 48
agttataacc atcccaagtc atg

23

<210> 49
<211> 23
<212> DNA
<213> amorce

<400> 49
tgaagtttat catcaaccat gtg

23

<210> 50
<211> 18
<212> DNA
<213> amorce

<400> 50
cccaaaacgt tgtccacc

18

<210> 51
<211> 20
<212> DNA
<213> amorce

<400> 51
aaccaagcyc ggtaggrat

20

<210> 52
<211> 25

<212> DNA
<213> amorce

<220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(15)
<223> n représente i

<400> 52
atgttgaacc cactnggggt gccat